

repository.ub.ac.id

TERAPI EKSTRAK KULIT JENGKOL (*Archidendron pauciflorum*) TERHADAP KEPADATAN KOLAGEN DAN KETEBALAN EPIDERMIS PADA PROSES KESEMBUHAN LUKA INSISI PADA TIKUS (*Rattus norvegicus*)

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh:

NASTITI NUR PATRIA WESTRI
145130100111030



PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

Terapi Ekstrak Kulit Jengkol (*Archidendron pauciflorum*) terhadap Kepadatan Kolagen dan Ketebalan Epidermis pada Proses Kesembuhan Luka Insisi pada Tikus (*Rattus norvegicus*)

Oleh :

NASTITI NUR PATRIA WESTRI

145130100111030

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
pada tanggal 1 Agustus 2018
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I

Pembimbing II

Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES
NIP. 19600903 198802 2 001

drh. Fajar Shodiq P, M.Biotech
NIP. 19870501 201504 1 001

Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Brawijaya

Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES
NIP. 19600903 198802 2 001

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Nastiti Nur Patria Westri
NIM : 145130100111030
Program Studi : Pendidikan Dokter Hewan
Penulis Skripsi berjudul : Terapi Ekstrak Kulit Jengkol (*Archidendron pauciflorum*)
Terhadap Kepadatan Kolagen dan Ketebalan Epidermis
pada Proses Kesembuhan Luka Insisi pada Tikus (*Rattus norvegicus*)

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya saya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaksud di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, Agustus 2018
Yang menyatakan

Nastiti Nur Patria Westri
NIM. 145130100111030

Terapi Ekstrak Kulit Jengkol (*Archidendron pauciflorum*) terhadap Kepadatan Kolagen dan Ketebalan Epidermis pada Proses Kesembuhan Luka Insisi pada Tikus (*Rattus norvegicus*)

Abstrak

Luka insisi merupakan luka yang sering ditemui pasca proses pembedahan, untuk mencegah terjadinya infeksi sekunder maka penyembuhan luka harus berlangsung dengan cepat. Penyembuhan luka merupakan suatu proses yang kompleks antara faktor seluler, humoral dan unsur jaringan ikat. Diantara unsur-unsur yang penting dalam penyembuhan luka adalah kolagen dan proses reepitelisasi. Tanin yang terkandung dalam ekstrak kulit jengkol dapat mempercepat proses pembentukan kolagen dan epitel. Tujuan penelitian ini adalah untuk membuktikan pengaruh pemberian ekstrak kulit buah jengkol terhadap peningkatan atau kepadatan kolagen dan ketebalan epidermis pada luka insisi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*). Sebanyak 20 ekor tikus galur wistar jantan dibagi menjadi lima kelompok perlakuan. Kelompok kontrol negatif, kelompok oxoferin yang diinsisi dan diterapi dengan oxoferin, kelompok terapi P1, P2 dan P3 yang diinsisi dan diterapi dengan salep ekstrak kulit jengkol 5%, 10% dan 15%. Kepadatan kolagen menggunakan metode pewarnaan *Masson's Trichome* dan diinterpretasi secara deskriptif sedangkan ketebalan epidermis dipreparasi menggunakan HE dan diukur dengan software Image Raster. Data secara statistik dianalisa dengan *one way ANOVA* dilanjutkan dengan uji *Tukey* ($\alpha = 0,05$). Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kulit jengkol secara signifikan ($p < 0,05$) dapat memperbaiki pertumbuhan kolagen dan ketebalan epidermis dengan dosis pemberian efektif 10%. Kesimpulan penelitian ini ekstrak kulit jengkol dapat digunakan sebagai terapi alternatif pada luka insisi.

Kata kunci: Luka, Ekstrak Kulit Buah Jengkol (*A. pauciflorum*), Kepadatan Kolagen, Ketebalan Epidermis

repository.ub.ac.id

The Jengkol Skin Extract (*Archidendron pauciflorum*) Therapy Toward Collagen Density and Thickness of Epidermis of Incisi Wound Healing Process on Rats (*Rattus norvegicus*)

Abstract

An incision wound is a wound that is often encountered post-surgery, to prevent secondary infection wound healing must take place quickly. Wound healing is a complex process of coordination between cellular factors, humoral and connective tissue elements. Among the elements that are important in wound healing are collagen and the process of reepithelization. Tanin contained in jengkol skin extract can accelerate the process of formation of collagen and epithelial. The purpose of this study is proving the effect of extract jengkol fruit skin increasing collagen density and epidermal thickness on incision wound in rats (*Rattus norvegicus*). A total of 20 male wistar rats were divided into five groups. Negative control group, oxoferin group were incised and treated with oxoferin, therapeutic group P1, P2 and P3 were incised and treated with extract of jengkol fruit skin 5%, 10% and 15%. Respective collagen density determined by *Masson's Trichrome* stains method and interpreted descriptively while the thickness of epidermal prepared by HE and measured by Image Raster software. Data were analyzed statistically by *one way ANOVA* followed by *Tukey* test ($\alpha = 0,05$). The results showed that jengkol skin extract significantly ($p < 0,05$) improve collagen and increase of thickness of epidermis with an effective dose of 10%. The conclusion of this study is that jengkol skin extract can be used as an alternative therapy for incision wound.

Key Word: Wound, Jengkol Fruit Skin Extract (*Archidendron pauciflorum*), Collagen Density, Thickness of Epidermal

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT karena telah memberikan rahmat dan pertolonganNya sehingga dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Terapi Ekstrak Kulit Jengkol (*Archidendron pauciflorum*) terhadap Kepadatan Kolagen dan Ketebalan Epidermis pada Proses Kesembuhan Luka Insisi pada Tikus (*Rattus norvegicus*)”**. Dengan terselesaikannya skripsi ini, penulis ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES selaku dosen pembimbing I dan Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya atas bimbingan, kesabaran, fasilitas dan waktu dalam penulisan karya tulis ini
2. Drh. Fajar Shodiq P, M.Biotech., selaku dosen pembimbing II atas bimbingan, kesabaran, fasilitas dan waktu dalam penulisan karya tulis ini.
3. Drh. Wawid Purwatiningsih, M.Vet., selaku dosen penguji I atas tanggapan dan saran yang diberikan.
4. Drh. Mira Fatmawati, M.Si., selaku dosen penguji II atas tanggapan dan saran yang diberikan.
5. Secara khusus penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada Ayah Sugeng Priyono dan Ibu Puji Asih atas doa, kasih sayang, semangat, dan dukungan dalam bentuk moril maupun materil tiada henti kepada penulis selama menempuh pendidikan di FKH UB.

6. Teman-teman dalam pelaksanaan penelitian Amatullah F. Yasmin, Riandini Firsta, Gita Amalia dan *Chelonia* 2014 C serta teman-teman *Avengers* angkatan 2014 yang selalu memberikan dorongan semangat, inspirasi dan keceriaan.
7. Teman-teman belajar dan berbagi segala hal Anganti Sotyo, Ila Kurnia, Ayu Pradnyani atas semangat dan bantuan yang diberikan selama ini.
8. Semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian penulisan karya tulis ini yang tidak mungkin penulis sebutkan satu persatu.

Akhir kata, penulis berharap semoga Tuhan membalas segala kebaikan yang telah diberikan dan Skripsi ini dapat memberikan manfaat dan menambah pengetahuan tidak hanya bagi penulis tetapi juga bagi pembaca.

Malang, 1 Agustus 2018

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN.....	ii
LEMBAR PERNYATAAN	iii
ABSTRAK.....	iv
ABSTRACT.	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.	viii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN.	xii
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG.....	xiii
 BAB 1 PENDAHULUAN.....	 1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Batasan Masalah	3
1.4 Tujuan Penelitian	4
1.5 Manfaat Penelitian	4
 BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	 5
2.1 Luka	5
2.1.1 Pengertian Luka	5
2.1.2 Jenis-Jenis Luka.....	6
2.1.3 Fase Penyembuhan Luka.....	7
2.1.4 Faktor Penyembuhan Luka.....	15
2.2 Jengkol.....	15
2.2.1 Kandungan Kulit Jengkol	16
2.2.2 Kulit Buah Jengkol Sebagai Astringen	17
2.3 Hewan Coba Tikus	17
2.4 Kolagen.....	18
2.5 Reepitelisasi	21
2.6 Kulit	23
 BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL	 30
3.1 Kerangka Konseptual.....	30
3.2 Hipotesis Penelitian	32
 BAB 4 METODE PENELITIAN	 33
4.1 Waktu dan Tempat Penelitian	33
4.2 Alat dan Bahan	33

4.3 Sampel Penelitian	34
4.4 Rancangan Penelitian.....	34
4.5 Variabel Penelitian.....	35
4.6 Tahap Penelitian	36
4.7 Prosedur Kerja	36
4.7.1 Persiapan Hewan Coba.....	36
4.7.2 Pembuatan Ekstraksi Kulit Buah Jengkol	37
4.7.3 Pembuatan Salep Ekstrak Kulit Buah Jengkol	37
4.7.4 Pembuatan Luka Insisi pada Hewan Coba	38
4.7.5 Pemberian Terapi Salep Ekstrak Kulit Buah Jengkol.....	39
4.7.6 Pengambilan dan Pembuatan Preparat Histopatologi	40
4.7.7 Pewarnaan HE dan Pengukuran Ketebalan Epidermis	41
4.7.8 Pewarnaan <i>Masson's Trichome</i> dan Pengamatan Kolagen ..	42
4.8 Analisis Data	43
BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN	44
5.1 Gambaran Makroskopik Hasil Terapi Salep Ekstrak Kulit Jengkol (<i>Archidendron pauciflorum</i>) pada Proses Kesembuhan Luka Insisi pada Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>).....	44
5.2 Terapi Salep Ekstrak Kulit Jengkol (<i>Archidendron pauciflorum</i>) Terhadap Kepadatan Kolagen pada Proses Kesembuhan Luka Insisi pada Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>).....	48
5.3 Terapi Salep Ekstrak Kulit Jengkol (<i>Archidendron pauciflorum</i>) Terhadap Ketebalan Epidermis pada Proses Kesembuhan Luka Insisi pada Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>).....	53
BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN	59
6.1 Kesimpulan	59
6.2 Saran	59
DAFTAR PUSTAKA	60
LAMPIRAN	64

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
5.2 Rata-rata Ketebalan Epidermis Pada Kulit Tikus.....	55
2.1 Fase Inflamasi.....	10
2.2 Fase Proliferasi	13
2.3 Fase Maturasi	14
2.4 Jengkol	16
2.5 Lapisan Epidermis	26
2.5 Kulit	29
4.1 Lapisan Epidermis Stratum Basale-Stratum Korneum	42
5.1 Luka Insisi pada Hewan Coba.....	44
5.2 Tikus Kelompok Oxoferin	45
5.3 Tikus Kelompok Perlakuan 1	46
5.4 Tikus Kelompok Perlakuan 2	46
5.5 Tikus Kelompok Perlakuan 3	47
5.6 Gambaran Histopatologi Jaringan Kulit Tikus dengan Pewarnaan <i>Masson's Trichome</i>	49
5.7 Gambaran Histopatologi Jaringan Kulit Tikus dengan Pewarnaan HE	54

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
5.1. Pertumbuhan dan Kepadatan Kolagen Hewan Coba.....	50
5.2 Rata-rata Ketebalan Epidermis pada Kulit Tikus	55



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema Penelitian	65
2. Langkah Kerja Penelitian	66
3. Perhitungan Komposisi Salep Ekstrak Kulit Buah Jengkol.....	68
4. Pembuatan Preparat Histopatologi Kulit dengan Pewarnaan HE.....	70
5. Hasil Uji Statistik Rata-rata Ketebalan Epidermis Tikus	71
6. Laik Etik.....	75
6. Determinasi Kulit Buah Jengkol	76



DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

°C	: derajat celcius
%	: persen
ANOVA	: <i>Analysis of variance</i>
BB	: Berat badan
BMZ	: <i>Basement membrane zone</i>
cm	: sentimeter
ECM	: <i>Extra cellular matrix</i>
EGF	: <i>Epidermal growth factor</i>
FGF	: <i>Fibroblast growth factor</i>
g	: gram
HE	: Hematoksilen-eosin
IM	: Intramuscular
kg	: kilogram
NaCl	: Natrium klorida
m	: meter
mg	: miligram
MMP	: <i>Matrix metalloproteinase</i>
mRNA	: <i>messenger-Ribonucleic Acid</i>
PBS	: <i>Phosphate-buffered saline</i>
PGA	: <i>Pulvis gummi arabicum</i>
pH	: <i>potential of hydrogen</i>
PMN	: Polimorfonuklear
PDGF	: <i>Platelet derived growth factor</i>
RAL	: Rancangan Acak Lengkap
TGF	: <i>Transforming growth factor</i>
VEGF	: <i>Vascular endothelial growth factor</i>

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Luka merupakan suatu keadaan dimana terjadi kerusakan atau hilangnya sebagian jaringan tubuh. Luka didefinisikan sebagai keadaan dimana hilangnya integritas epitel dari kulit. Peranan kulit sangat penting bagi tubuh, seperti regulasi suhu, ekskresi, perlindungan, sensorik dan pembentukan vitamin D. Luka dapat disebabkan oleh trauma baik benda tajam maupun benda tumpul, zat kimia, perubahan suhu, sengatan listrik, ledakan maupun gigitan (Nasution dan Batubara, 2017).

Peran kolagen dalam proses penyembuhan luka sangat penting karena kolagen memiliki kemampuan dalam mempertahankan hemostasis, interaksi trombosit, interaksi fibronectin, meningkatkan komponen seluler, meningkatkan faktor pertumbuhan dan mendorong proses fibroplasia serta proliferasi epidermis (Novriansyah, 2008). Menurut Triyono (2005). Akumulasi kolagen pada daerah luka tergantung pada ratio antara sintesis dan degradasi kolagen oleh enzim. Pada fase awal proses penyembuhan luka, jumlah degradasi kolagen rendah, dan akan meningkat seiring dengan proses maturasi luka.

Regenerasi lapisan epidermis atau yang biasa disebut dengan epidermisasi pada perlukaan memiliki peran penting dalam proses penutupan luka sehingga mencegah terjadinya infeksi dan proses penyembuhan selanjutnya dapat berlangsung. Epidermisasi dimulai dengan proliferasi sel epitel ke arah lateral untuk menutup luka

dan kemudian proliferasi vertikal untuk memperkuat daya lindung kulit dengan terbentuknya sel epitel serta pertautan antar sel epitel (Kertadjaja, 2002).

Penelitian yang telah dilakukan oleh Malini dkk., (2017) menunjukkan ekstrak kulit buah jengkol dapat mempercepat kesembuhan luka diabetes. Kulit buah jengkol diketahui mengandung berbagai senyawa kimia seperti alkaloid, flavonoid, tanin, polifenol, saponin, serta triterpenoid atau steroid. Senyawa-senyawa kimia tersebut diketahui dapat berperan dalam proses penyembuhan luka melalui mekanisme antimikroba, meningkatkan neovaskularisasi serta kepadatan kolagen dan sebagai astringensia dan antioksidan (Mukherjee, 2015).

Penelitian ini diharapkan dapat mengetahui potensi ekstrak etanol kulit buah jengkol (*A. pauciflorum*) dalam mempercepat proses kesembuhan luka dilihat dari ketebalan epidermis dengan pembuatan preparat histopatologi jaringan kulit menggunakan pewarnaan HE dan kepadatan kolagen dengan pembuatan preparat histopatologi jaringan kulit tikus (*Rattus norvegicus*) menggunakan pewarnaan *Masson's Trichome*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas maka rumusan masalah pada penelitian ini adalah :

1. Apakah pemberian ekstrak kulit buah jengkol (*A. pauciflorum*) secara topikal berpengaruh terhadap penyembuhan luka insisi pada tikus (*Rattus norvegicus*) ditinjau dari kepadatan kolagen?

2. Apakah pemberian ekstrak kulit buah jengkol (*A. pauciflorum*) secara topikal mampu meningkatkan ketebalan epidermis berkaitan dengan penyembuhan luka insisi pada tikus (*Rattus norvegicus*)?

1.3 Batasan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka penelitian ini dibatasi pada :

1. Hewan model yang digunakan adalah tikus (*Rattus norvegicus*) jantan dengan umur 8-12 minggu dan berat badan 150-250 g. Telah mendapatkan sertifikat Laik Etik dari Komisi Etik Penelitian Universitas Brawijaya Malang No: 936-KEP-UB (Lampiran 6).
2. Luka insisi dibuat dengan menginsisi pada daerah dorsolateral yang telah dicukur sepanjang 3 cm kedalamannya mencapai subkutan dengan menggunakan gunting.
3. Pemberian terapi ekstrak kulit buah jengkol (*A. pauciflorum*) dilakukan secara topikal, pemberian dua kali sehari dengan konsentrasi berbeda yaitu 5%, 10% dan 15% dibuat dalam bentuk sediaan salep selama 10 hari.
4. Variabel pertama yang diamati dalam penelitian ini adalah kepadatan kolagen menggunakan pewarnaan *Masson's Trichome*, yang dianalisa secara deskriptif.
5. Variabel kedua yang diamati dalam penelitian ini adalah ketebalan epidermis menggunakan pewarnaan *Haematoksin Eosin* (HE) yang diamati dengan mikroskop cahaya, pengukuran ketebalan epidermis diukur menggunakan micrometer, diawali dari stratum korneum hingga stratum basale.

6. Data kuantitatif ketebalan epidermis yang diperoleh akan dianalisa dengan analisa statistik *one way ANOVA* dilanjutkan dengan uji *Tukey* dengan angka kepercayaan 95%.

1.4 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kulit buah jengkol (*A. pauciflorum*) secara topikal terhadap penyembuhan luka insisi ditinjau dari kepadatan kolagen pada tikus (*Rattus norvegicus*).
2. Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kulit buah jengkol (*A. pauciflorum*) secara topikal terhadap peningkatan ketebalan epidermis berkaitan dengan penyembuhan luka insisi pada tikus (*Rattus norvegicus*).

1.5 Manfaat Penelitian

Memberikan informasi mengenai pengaruh pemberian ekstrak kulit buah jengkol terhadap peningkatan kepadatan kolagen dan ketebalan epidermis untuk mempercepat kesembuhan luka insisi pada tikus (*Rattus norvegicus*). Pemanfaatan pemberian terapi topikal ekstrak kulit buah jengkol (*A. pauciflorum*) dapat digunakan sebagai terapi pada penyembuhan luka yang bersifat mempercepat regenerasi sel sehingga efek samping dari penggunaan obat kimia dapat di kurangi.

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

1.1 Luka

2.1.1 Pengertian Luka

Luka merupakan terputusnya kontinuitas jaringan karena cidera atau pembedahan. Luka sendiri dapat diklasifikasikan berdasarkan struktur anatomis, sifat, proses penyembuhan dan lama penyembuhan (Kartika, 2015). Menurut Sinaga dan Tarigan (2012) luka juga di definisikan sebagai keadaan dimana rusaknya struktur dan fungsi anatomis dari kulit sebagai akibat proses patologis yang berasal dari internal dan eksternal organ tertentu. Sedangkan menurut Hartiningtiyaswati (2010) luka merupakan keadaan hilang atau rusaknya sebagian jaringan tubuh. Ketika terjadi perlukaan maka akan menimbulkan efek kehilangan semua atau sebagian dari fungsi organ, respon stress simpatis, hemoragi dan pembekuan darah, kontaminasi bakteri serta kematian sel.

Etiologi atau penyebab dari luka itu sendiri sangat beragam. Murtutik dan Marjiyanto (2013) menyebutkan bahwa penyebab luka dapat berasal dari tusukan atau goresan benda tajam, benturan benda tumpul, kecelakaan, terkena tembakan, gigitan hewan, bahan kimia, air panas, uap air, terkena api atau terbakar, listrik dan petir. Selain itu, menurut Tarigan dan Pemila (2007) kerusakan integritas kulit dapat terjadi ketika kulit terpapar oleh suhu, pH, zat kimia, gesekan, trauma, tekanan dan radiasi.

2.1.2 Jenis- Jenis Luka

Menurut Dorland (2006), luka dibagi menjadi dua jenis, yaitu:

a. Luka Tertutup

Luka tertutup merupakan luka dimana kulit penderita tetap utuh dan tidak ada kontak antara jaringan yang ada di bawah kulit dengan lingkungan luar, kerusakannya diakibatkan oleh trauma benda tumpul. Luka tertutup umumnya dikenal dengan sebutan luka memar yang dapat digolongkan menjadi dua jenis yaitu:

- 1) Kontusio, kerusakan jaringan di bawah kulit yang mana dari luar hanya tampak sebagai benjolan.
- 2) Hematoma, kerusakan jaringan di bawah kulit yang disertai pendarahan sehingga dari luar tampak kebiruan.

b. Luka Terbuka

Luka terbuka adalah luka dimana kulit atau jaringan di bawahnya mengalami kerusakan. Penyebab luka ini adalah benda tajam, tembakan, benturan benda keras dan lain-lain. Macam-macam luka terbuka antara lain yaitu luka lecet (*ekskoriasi*), luka gigitan (*vulnus marsum*), luka iris atau sayat (*vulnus scisum*), luka bacok (*vulnus caesum*), luka robek (*vulnu traumaticum*), luka tembak (*vulnus sclopetinum*), luka hancur (*vulnus lacerum*) dan luka bakar.

Luka iris atau sayat (*vulnus scisum*) biasanya ditimbulkan oleh irisan benda yang bertepi tajam seperti pisau, silet, parang dan sejenisnya. Luka yang timbul biasanya berbentuk memanjang, tepi luka

berbentuk lurus, tetapi jaringan kulit di sekitar luka tidak mengalami kerusakan.

2.2.3 Fase Penyembuhan Luka

Menurut Triyono (2005) rangsangan eksogen dan endogen dapat menimbulkan kerusakan sel, dan selanjutnya memicu reaksi vaskuler kompleks pada jaringan ikat yang ada pembuluh darahnya. Reaksi inflamasi berguna sebagai proteksi terhadap jaringan yang mengalami kerusakan untuk tidak mengalami infeksi dan meluas tak terkendali. Proses inflamasi sangat erat hubungannya dengan penyembuhan luka. Tanpa adanya inflamasi tidak akan terjadi proses penyembuhan luka.

Proses inflamasi terjadi pada jaringan ikat dengan pembuluh darah yang mengandung plasma, sel yang bersirkulasi, elemen seluler dan ekstra seluler jaringan pengikat. Komponen seluler terdiri dari eritrosit, leukosit (neutrofil, eosinofil dan basofil), monosit, limfosit, trombosit, sedangkan sel jaringan pengikat adalah sel mast, *fibroblast*, monosit, makrofag dan limfosit. Elemen ekstra seluler antara lain kolagen, elatin, glikoprotein adesif (fibronektin, laminin, kolagen non fibril, tenasin dan proteroglikan)

Proses penyembuhan luka terjadi pada awal inflamasi. Dalam proses inflamasi terjadi perusakan, pelarutan dan penghancuran sel atau agen penyebab kerusakan sel, pada saat yang sama terjadi proses reparasi, proses pembentukan kembali jaringan rusak atau proses penyembuhan jaringan rusak. Proses ini baru selesai sempurna sesudah agen penyebab kerusakan sel dinetralkan. Selama proses reparasi berlangsung, jaringan rusak diganti oleh regenerasi sel

parenkimal asli dengan cara mengisi bagian yang rusak dengan jaringan *fibroblast* atau biasa disebut dengan proses *scarring*.

Proses penyembuhan luka merupakan proses pembentukan jaringan sehingga kembali seperti semula atau terjadinya pergantian jaringan yang rusak oleh jaringan baru melalui proses regenerasi dan reparasi. Proses penyembuhan luka melibatkan suatu proses yang kompleks. Secara garis besar, penyembuhan luka terdiri dari empat fase utama, yaitu fase hemostasis, fase inflamasi, fase proliferasi dan fase *remodeling* (Kumar *et al.*, 2007).

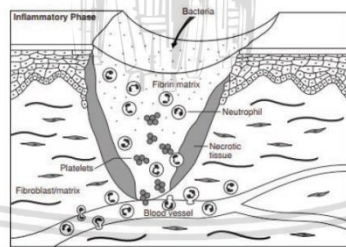
1) Fase Hemostasis

Secara normal, tubuh memiliki mekanisme untuk menghentikan perdarahan yang terjadi akibat luka. Respon tersebut meliputi kontraksi otot polos pembuluh darah, agregasi trombosit, dan koagulasi darah. Kontraksi otot polos pembuluh darah menyebabkan berkurangnya aliran darah ke luka yang menyebabkan hipoksia dan asidosis pada jaringan. Hal tersebut meningkatkan produksi oksida nitrat, adenosin, dan metabolit vasoaktif yang menyebabkan refleksi vasodilatasi. Histamin akan disekresi oleh sel mast yang meningkatkan vasodilatasi dan permeabilitas pembuluh darah. Proses ini memfasilitasi diapedesis sel radang ke jaringan luka. Vasokonstriksi dari pembuluh darah yang rusak diperkuat oleh serabut fibrin untuk membentuk sebuah bekuan (Murray, 2014).

2) Fase Inflamasi

Novriansyah (2008) menyebutkan bahwa proses penyembuhan terjadi sejak awal pada saat terjadi luka, fase inflamasi terjadi pada hari ke 0 hingga ke 5. Luka trauma atau luka pembedahan mengakibatkan kerusakan pada struktur jaringan dan mengakibatkan perdarahan. Pada tahap awal darah akan mengisi jaringan yang cidera dan terpaparnya darah terhadap kolagen berakibat terjadinya degranulasi trombosit dan pengaktifan faktor Hageman. Hal ini akan memicu sistem biologis lain seperti pengaktifan komplemen kinin, kaskade, pembekuan dan pembentukan plasmin. Keadaan ini memperkuat bekuan yang menyatukan tepi luka akan tetapi juga akumulasi dari beberapa mitogen dan menarik zat kimia ke daerah luka. Pembentukan kinin dan prostaglandin menyebabkan vasodilatasi dan peningkatan permeabilitas pembuluh darah di daerah luka. Hal ini menyebabkan edema dan kemudian menimbulkan pembengkakan dan nyeri pada awal terjadinya luka. Leukosit PMN adalah sel pertama yang menuju ketempat luka. Jumlahnya meningkat secara cepat dan mencapai puncaknya pada 24-48 jam. Fungsi utamanya adalah melakukan fagositosis bakteri yang masuk. Pada penyembuhan luka normal kehadiran sel-sel ini tidak begitu penting. Adanya sel ini menunjukkan bahwa luka terkontaminasi bakteri. Bila tidak terjadi infeksi PMN berumur pendek dan jumlahnya menurun cepat setelah hari ke tiga.

Makrofag merupakan komponen imun seluler yang muncul pada tahap selanjutnya. Makrofag muncul pertama 48-96 jam setelah terjadinya luka dan mencapai puncaknya pada hari ke tiga. Dibandingkan dengan leukosit PMN makrofag berumur lebih panjang dan tetap ada di dalam luka sampai proses penyembuhan luka berjalan sempurna. Setelah makrofag akan muncul limfosit T dengan jumlah bermakna pada hari ke lima dan mencapai puncaknya pada hari ke tujuh. Berbeda dengan sel PMN, makrofag dan limfosit T penting keberadaannya pada penyembuhan luka normal. Sama halnya dengan neutrofil, makrofag melakukan fagositosis dan mencerna organisme-organisme patologis dan jaringan sisa. Disamping itu makrofag juga melepaskan faktor pertumbuhan dan sitokin yang mengawali dan mempercepat formasi jaringan granulasi.



Gambar 2.1 Fase Inflamasi (Kartika, 2015)

3) Fase Poliferasi

Fase ini terjadi pada hari ke 3-14. Apabila tidak ada kontaminasi atau infeksi yang bermakna, fase inflamasi berlangsung pendek. Setelah luka berhasil dibersihkan dari jaringan mati dan sisa material yang tidak

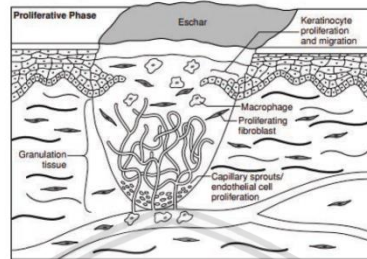
berguna, dimulailah fase poliferasi. Fase poliferasi ditandai dengan pembentukan jaringan granulasi pada luka. Jaringan granulasi merupakan kombinasi dari elemen seluler termasuk *fibroblast* dan sel inflamasi, yang bersamaan dengan timbulnya kapiler baru tertanam dalam jaringan longgar ekstraseluler dari matriks kolagen, fibronectin dan asam hialuronik. *Fibroblast* muncul pertama kali secara bermakna pada hari ke tiga dan mencapai puncak pada hari ke tujuh. Peningkatan jumlah *fibroblast* pada daerah luka merupakan kombinasi dari poliferasi dan migrasi. *Fibroblast* ini berasal dari sel-sel mesenkimal lokal, terutama yang berhubungan dengan lapisan adventisia, pertumbuhannya disebabkan oleh sitokin yang diproduksi oleh makrofag dan limfosit. *Fibroblast* merupakan elemen utama pada proses perbaikan untuk pembentukan protein struktural yang berperan dalam pembentukan jaringan. *Fibroblast* juga memproduksi kolagen dalam jumlah besar, kolagen ini berupa glikoprotein berantai tripel, unsur utama matriks luka ekstraseluler yang berguna membentuk kekuatan pada jaringan parut. Kolagen pertama kali dideteksi pada hari ke tiga setelah luka, meningkat sampai minggu ke tiga. Kolagen terus bertumpuk sampai tiga bulan. Penumpukan kolagen pada saat awal terjadi berlebihan kemudian fibril kolagen mengalami reorganisasi sehingga terbentuk jaringan reguler sepanjang luka.

Revaskularisasi dari luka terjadi secara bersamaan dengan fibroplasia. Tunas-tunas kapiler tumbuh dari pembuluh darah yang

berdekatan dengan luka. Tunas-tunas kapiler ini bercabang di ujungnya kemudian bersatu membentuk lengkung kapiler dimana darah kemudian mengalir. Tunas-tunas baru muncul dari lengkung kapiler membentuk pleksus kapiler. Mediator pertumbuhan sel endotelial ini dan kemotaksis termasuk sitokin yang dihasilkan trombosit, makrofag dan limfosit pada luka, tekanan oksigen yang rendah, asam laktat dan amin biogenik. Sitokin merupakan stimulan potensial untuk pembentukan formasi baru pembuluh darah termasuk *fibroblast growth factor* (FGF), *transforming growth factor* (TGF) dan *epidermal growth factor* (EGF). FGF pada percobaan *in vivo* merupakan substansi poten dalam neovaskularisasi.

Proses tersebut terjadi dalam luka, sementara itu pada permulaan luka juga terjadi restorasi integritas epitel. Reepitelisasi ini terjadi beberapa jam setelah luka. Sel epitel tumbuh dari tepi luka, bermigrasi ke jaringan ikat yang masih hidup. Epidermis segera mendekati tepi luka dan menebal dalam 24 jam setelah luka. Sel basal marginal pada tepi luka menjadi longgar ikatannya dari dermis di dekatnya, membesar dan bermigrasi ke permukaan luka yang sudah mulai terisi matriks sebelumnya. Sel basal pada daerah dekat luka mengalami pembelahan yang cepat dan bermigrasi dengan pergerakan menyilang satu dengan yang lain sampai defek yang terjadi tertutup semua. Ketika sudah terbentuk jembatan, sel epitel yang bermigrasi berubah berbentuk menjadi lebih kolumnar dan meningkat aktivitas mitotiknya. Proses reepitelisasi sempurna kurang dari 48 jam pada luka sayat yang tepinya saling

berdekatan dan memerlukan waktu lebih panjang pada luka dengan defek lebar. Faktor-faktor yang berperan adalah EGF, TGF, FGF, VEGF dan PDGF (Triyono, 2005).



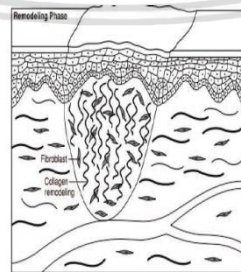
Gambar 2.2 Fase Proliferasi (Kartika, 2015)

4) Fase Pematangan

Fase ini berlangsung dari hari ke tujuh sampai dengan satu tahun. Setelah matriks ekstraseluler terbentuk, dimulailah reorganisasi. Matriks ekstra sel pada mulanya kaya akan fibronectin. Hal ini tidak hanya menghasilkan migrasi sel substratum dan pertumbuhan sel ke dalam tetapi juga menyebabkan pertumpukan kolagen oleh fibroblas. Terbentuknya asam hialuronidase dan proteoglikan dengan berat molekul besar berperan pada pembentukan matriks ekstraseluler dengan konsistensi seperti gel dan membantu infiltrasi seluler. Kolagen selanjutnya berkembang cepat menjadi faktor utama yang membentuk matriks. Pada awalnya serabut kolagen terdistribui secara acak membentuk persilangan dan beragregasi menjadi serabut fibril secara perlahan menyebabkan penyembuhan jaringan dan meningkatkan kekakuan serta kekuatan ketegangan luka. Setelah lima

hari periode jeda, pada saat ini bersesuaian dengan pembentukan jaringan granulasi awal dengan matriks sebagian besar tersusun dari fibronektin dan asam hialuronidase, selanjutnya akan terjadi peningkatan cepat dari kekuatan ketahanan luka karena proses fibrogenesis kolagen. Pencapaian kekuatan tegangan luka berjalan lambat. Setelah tiga minggu kekuatan penyembuhan luka mencapai 20% dari kekuatan akhir.

Proses pengembalian ketegangan berjalan perlahan karena deposisi jaringan kolagen terus-menerus, *remodeling* serabut kolagen membentuk serabut-serabut kolagen lebih besar dan perubahan dari *cross linking* inter molekuler. *Remodeling* kolagen selama pembentukan jaringan parut tergantung pada proses sintesis dan katabolisme kolagen yang berkesinambungan. Degradasi kolagen pada luka dikendalikan oleh enzim kolagenase. Kecepatan sintesis kolagen yang tinggi mengembalikan luka ke jaringan normal dalam waktu enam bulan sampai satu tahun (Novriansyah, 2008).



Gambar 2.3 Fase Maturasi (Kartika, 2015)

2.1.4 Faktor Penyembuhan Luka

Penyembuhan luka merupakan suatu proses yang kompleks namun sistematis. Proses penyembuhan luka meliputi peradangan, reepitelisasi, kontraksi luka, dan metabolisme kolagen. Pada proses penyembuhan luka diantaranya infeksi, gizi buruk, daya tahan tubuh tertekan, obat-obatan, diabetes, radiasi, penyakit, merokok, stres. Dalam proses penyembuhan luka membutuhkan perawatan yang mencakup pembersihan luka dan debridmen, pengolesan preparat antibiotik topikal serta pembalutan (Rahmawati, 2014).

1.2 Jengkol

Jengkol adalah tumbuhan khas dari wilayah Asia Tenggara. Bijinya digemari di Malaysia, Thailand dan Indonesia sebagai bahan pangan. Tumbuhan ini juga banyak ditemukan di Malaysia dan Thailand. Namun, asal-usul tanaman jengkol tidak diketahui dengan pasti. Jengkol merupakan tanaman leguminosa dengan kegunaan yang beragam mulai dari tunas, biji, sampai daun dari tumbuhan jengkol dapat dimanfaatkan (Virounbounyapat *et al.*, 2012).

Klasifikasi tumbuhan jengkol menurut Bunawan *et al.*, (2013) adalah:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Class	: Dicotyledoneae
Ordo	: Fabales
Family	: Mimosaceae
Genus	: Archidendron
Spesies	: <i>Archidendron pauciflorum</i>

Tumbuhan jengkol juga memiliki sinonim seperti *Archidendron jiringa* dan *Pithecellobium lobatum*. Tumbuhan jengkol mampu tumbuh tinggi mencapai 26 meter. Morfologi tumbuhan jengkol ini memiliki akar tunggang, dengan batang yang memiliki banyak percabangan, berdaun majemuk dengan panjang 10-20 cm dan lebar 5-15 cm bertepi rata, ujung runcing dan tulang daun menyirip. Buah jengkol memiliki morfologi berbentuk bulat pipih berwarna coklat kehitaman.



Gambar 2.4 Jengkol (Bunawan *etal.*, 2013)

1.2.1 Kandungan Kulit Jengkol

Masyarakat Indonesia umumnya menggunakan buah jengkol sebagai bahan konsumsi. Bagian dari buah jengkol yang sering digunakan oleh masyarakat Indonesia adalah bagian bijinya, sedangkan kulit buah jengkol yang merupakan bagian dari buah jengkol dibuang sebagai sampah yang menyebabkan peningkatan limbah organik. Kulit dari buah jengkol termasuk limbah di pasar tradisional dan tidak memberikan nilai ekonomis bagi masyarakat (Patimah *dkk.*, 2012).

Menurut Madihah *dkk.*, (2017) kulit buah jengkol memiliki kandungan senyawa aktif berupa saponin, tanin, flavonoid, alkanoid, glikosida dan steroid

atau triterpenoid. Flavonoid memberikan aktifitas antiinflamasi. Kulit buah jengkol juga mengandung tanin yang memberikan manfaat sebagai astringen dan menyebabkan pori-pori kulit mengecil. Kulit buah jengkol memiliki manfaat sebagai antiseptik dan obat untuk luka bakar.

1.2.2 Kulit Buah Jengkol Sebagai Astringen

Berdasarkan uraian diatas kulit buah jengkol memiliki beberapa efek farmakologi seperti astringent dari ekstrak etanol kulit buah jengkol yang mengandung tanin. Tanin dapat mempercepat proses pengeringan luka karena tanin berfungsi sebagai astringent. Astringent merupakan bahan pengencang yang mempunyai daya untuk mengerutkan dan menciutkan jaringan kulit, sehingga perdarahan pada luka dapat berhenti dengan cepat dan luka lebih cepat mengering (Rairisti, 2014).

1.3 Hewan Coba Tikus

Hewan percobaan adalah setiap hewan yang dipergunakan pada sebuah penelitian biologis dan biomedis yang dipilih berdasarkan syarat atau standar dasar yang diperlukan dalam penelitian tersebut. Berbagai hewan kecil memiliki karakteristik tertentu yang relatif sempurna dengan manusia, sementara hewan lainnya mempunyai kesamaan fisiologis metabolis manusia. Tikus putih sering digunakan dalam menilai mutu protein, toksisitas, karsinogenik, dan kandungan pestisida dari suatu produk bahan pangan hasil pertanian (Ridwan, 2013).

Tikus laboratorium merupakan omnivora alami dan bersifat proliflik. Tikus sering digunakan untuk penelitian karena harganya murah dan mudah dipelihara. Tikus putih (Albino Normay rat, *Rattus norvegicus*) yang biasa digunakan sebagai hewan

percobaan di laboratorium terdiri atas lima macam “*basic stock*” yaitu *Long Evans*, *Obsorne Mendel*, *Sherman*, *Sprague Dawley* dan *Wistar*. Sistem Klasifikasi tikus putih adalah sebagai berikut:

Kingdom : Animalia
Phylum : Chordata
Kelas : Mamalia
Ordo : Rodentia
Subordo : Sciurognathi
Famili : Muridae
Subfamili : Murinae
Genus : *Rattus*
Spesies : *Rattus norvegicus* (Sari, 2011)

Tikus putih termasuk ke dalam hewan mamalia yang memiliki ekor panjang, telinga tebal dan pendek dengan rambut halus. Memiliki mata berwarna merah serta memiliki ekor yang panjang. Bobot badan tikus pada umur 12 minggu mencapai 240 g untuk tikus jantan dan 200 g untuk tikus betina. Tikus memiliki lama hidup berkisar antara 4-5 tahun dengan berat badan umum tikus jantan berkisar 267-500 g dan betina 225-325 g (Adiyati, 2011).

1.4 Kolagen

Kolagen adalah protein utama yang menyusun komponen matriks ekstraseluler dan merupakan protein terbanyak yang ditemukan dalam tubuh. Kolagen tersusun atas *triple helix* dari rantai *alfa*-polipeptida. Kolagen berperan penting pada setiap tahap penyembuhan luka. Kolagen memiliki kemampuan hemostasis, interaksi

trombosit, interaksi fibronectin, meningkatkan eksudasi cairan, meningkatkan komponen seluler, meningkatkan faktor pertumbuhan dan memicu proses fibroplasia dan proliferasi epidermis (Novriansyah, 2008). Kolagen berfungsi untuk mengisi matriks ekstraseluler. Pada proses penyembuhan luka, kolagen dibentuk sejak hari ke tiga dan akan tampak nyata jumlahnya di hari ke tujuh setelah luka, dan mulai stabil serta terorganisir pada hari ke-14. Serabut kolagen dapat dibedakan dengan matriks ekstraseluler lainnya secara spesifik dengan menggunakan pewarnaan khusus yaitu pewarnaan histokimia (Sabirin dkk., 2013).

Menurut Triyono (2005) sintesis kolagen meliputi kombinasi asam amino ke bentuk rantai yang membentuk molekul, dan kemudian bergabung membentuk *fibril* yang menyatu ke dalam *bundle*. *Fibroblast* merupakan sel utama dalam sintesis kolagen. Tahap pertama sintesis kolagen berada pada intraseluler untuk menghasilkan molekul prokolagen dimana dalam keadaan aktif akan berada di ekstraseluler. Sintesis di intraseluler terjadi di nukleus dimana gen diaktifkan dan terjadi perubahan mRNA, khas untuk rantai polipeptida tunggal. mRNA masuk kedalam sitoplasma dan diubah pada ribosom dari retikulum endoplasma dan terjadi sintesis rantai polipeptida *triple*. Tiga rantai *alfa* yang identik sebagai kolagen tipe III dan tiga rantai berbeda sebagai tipe I. Prokolagen selanjutnya meninggalkan sel, kemudian beberapa asam amino membelah secara enzimatis membentuk tropokolagen. Tropokolagen dapat bergabung dengan molekul tropokolagen lainnya membentuk filamen kolagen. Filamen ini kemudian bergabung membentuk *fibril*. *Fibril* kolagen ini selanjutnya bergabung membentuk serabut kolagen. Tropokolagen inilah yang secara definitif disebut molekul kolagen. Bentuk filamen, fibril, dan serabut terjadi di dalam matrik

glikosaminoglikan, asam hialuronidase, chondroitin sulfat, dermatan sulfat dan heparin sulfat yang dihasilkan oleh fibroblast, Selain disintesis oleh *fibroblast* kolagen juga dapat disintesis oleh *chondroblast*, *osteoblast*, otot polos, sel endotel dan epitel. Prolyl hydroxylase merupakan salah satu enzim yang membatasi sintesa kolagen. Sinyal yang mempengaruhi sintesa kolagen adalah faktor pertumbuhan, nutrisi, tekanan parsial oksigen dan konsentrasi laktasi. Proses mulai dan berhentinya sintesa kolagen saat ini masih aktif diteliti.

Novriansyah (2008) mengungkapkan bahwa kolagen merupakan agen hemostatik yang sangat efisien, sebab trombosit melekat pada kolagen, kolagen akan membengkak dan selanjutnya akan melepaskan substansi yang memulai proses hemostatis. Interaksi kolagen dengan trombosit tergantung pada tingkat polimerasi dan maturasi kolagen serta pengaruh positif pada molekul kolagen. Kolagen dapat membantu agregasi trombosit karena kemampuannya mengikat fibronectin. Interaksi kolagen dengan trombosit merupakan tahap pertama proses penyembuhan yaitu hemostasis, kemudian diikuti dengan vasokonstriksi dan vasodilatasi. Vasokonstriksi berlangsung kurang lebih selama 10 hingga 30 menit dan mengurangi keluarnya darah dari daerah luka. Selama fase vasodilatasi daerah non trauma menjadi lebih *permeabel* selanjutnya terjadi perembesan protein plasma, hormon, elektrolit, antibodi, cairan dan leukosit PMN. Fase vasokonstriksi dan vasodilatasi diikuti dengan proses pembersihan daerah luka. Terjadi akumulasi yang cepat dari leukosit PMN dan makrofag pada tempat trauma. Kolagen mempunyai kemampuan kemotaksis terhadap monosit. Monosit seperti makrofag berfungsi melakukan fagositosis kuman di daerah luka dan membersihkan debris. Menurunnya jumlah makrofag akan memperlambat

pembersihan luka. Makrofag akan menarik fibroblas ke tempat luka dan mulai terjadi proses sintesis kolagen.

Makrofag akan melepaskan sitokin dan enzim hidolitik yang selanjutnya mengubah faktor pertumbuhan pada tempat remodeling jaringan. Hasil ini membentuk jaringan granulasi. Dengan terlepasnya substansi angiogenik dari makrofag, terjadi ledakan cepat dari proses fibroplasia dan angiogenesis. Jaringan granulasi berisi sejumlah besar makrofag, fibroblas, neovaskulatur pada matrik fibronectin, kolagen dan asam hialuronidase. *Fibroblast* merupakan komponen yang paling banyak pada jaringan granulasi. Sintesis dan deposit kolagen merupakan saat yang penting pada fase proliferasi dan penyembuhan luka secara umum.

Remodeling kolagen selama fase maturasi tergantung pada berlangsungnya sintesis kolagen dan adanya degradasi kolagen. Kolagenase dan metalloproteinase di dalam luka membuang kelebihan kolagen sementara sintesis kolagen yang baru masih tetap berjalan. Selama remodeling, kolagen menjadi lebih terorganisir. Fibronectin secara bertahap menghilang dan asam hialuronidase dan glikosaminoglikan diganti tempatnya oleh proteoglikan. Kolagen tipe III tempatnya digantikan oleh kolagen tipe I. Serabut kolagen menutup bersama, menyebabkan kolagen *cross-linking* dan akhirnya mengurangi ketebalan *scar*. Kolagen intermolekul dan intramolekul *cross-link* menghasilkan peningkatan kekuatan luka (Triyono, 2005).

1.5 Reepitelisasi

Reepitelisasi merupakan proses perbaikan sel-sel epitel kulit sehingga luka akan tertutup. Semakin cepat terjadi reepitelisasi akan membuat struktur epidermis akan mencapai keadaan normal. Reepitelisasi adalah tahapan perbaikan luka yang

meliputi mobilisasi, migrasi, mitosis, dan diferensiasi sel epitel. Tahapan-tahapan ini akan mengembalikan integritas kulit yang hilang. Mitosis dan migrasi sel epitel akan berfungsi untuk mengembalikan integritas dari kulit. Pada permulaan kulit reepitelisasi akan terjadi, melalui pergerakan sel-sel epitel dari tepi jaringan bebas menuju jaringan rusak (Febram *dkk.*, 2010).

Pada proses reepitelisasi terjadi migrasi keratosit proliferasi keratosit, dan diferensiasi neoepitel menjadi epitel berlapis. Migrasi keratosit menuju daerah perlukaan sekitar 24 jam setelah perlukaan. Pada hari pertama dan kedua migrasi penutupan permukaan epitel hanya setebal dua sampai tiga sel dan membentuk lapisan basal. Pembentukan matriks sementara dilakukan oleh fibronectin bersama dengan fibrin. Matriks tersebut bertindak sebagai penjangkar seluler dan jalan bagi epitel untuk bermigrasi sendiri. Fibronectin merupakan komponen matriks penting yang mendukung adhesi keratosit dan memandu pergerakan sel dalam menyebrangi luka (Kalangi, 2011).

Proliferasi sel basal epitel terjadi pada hari pertama sampai kedua. Puncak proliferasi sel terjadi pada hari ke tiga dan berlanjut pada proses pembentukan dermis. Pembentukan kembali dermis dimulai pada hari ke tiga atau ke empat setelah perlukaan, dengan ciri pembentukan neovaskularisasi dan penumpukan fibroblas. Kolagen tipe III disekresikan maksimal oleh fibroblas antara hari ke lima dan ke tujuh, setelah itu akan terjadi miofibroblas. Pada hari ke tujuh sampai ke sembilan epitelisasi dan *basement membrane zone* (BMZ) sudah terbentuk. Reepitelisasi dapat dibuktikan dengan mengukur tebal dan lebar celah epitel yang terbentuk (Rupina *dkk.*, 2016).

Proses reepitelisasi terjadi selama fase proliferasi. Lapis sel-sel yang mati karena trauma melindungi sel-sel hidup di lapisan yang lebih dalam dari epitel. Lapis-lapis perbaikan luka terbentuk dengan adanya integrasi antara kolagen yang disintesis oleh fibroblast dengan substansi dasar. Selama pemulihan luka, sel-sel pada tepian luka membentuk menjadi lembaran tipis dan menyebar menutupi celah dalam epitel. Sedangkan pada tepi luka, pembelahan sel dimulai agak lambat untuk menyediakan sel yang diperlukan untuk pemulihan epitel sampai tebalnya normal (Martyarini, 2011).

Epitel mencapai ketebalan normalnya pada hari ke empat dan ke lima sambil terus melakukan diferensiasi sel permukaan untuk menghasilkan arsitektur epitel yang matur dengan keratinisasi permukaan. Luka akan tertutup pada hari kelima pasca perlukaan dan pada hari ke tujuh jaringan epitel telah matang dan lapisan korneum yang baru biasanya sudah tampak. Pada hari ke tujuh kontraksi luka yang dimediasi oleh myofibroblas (Young dan McNaught, 2011).

1.6 Kulit

Kulit merupakan lapisan pelindung tubuh yang sempurna terhadap pengaruh luar, baik pengaruh fisik maupun pengaruh kimia. Kulit merupakan sawar fisiologik yang penting karena mampu menahan penembusan bahan gas, cair, maupun padat baik yang berasal dari lingkungan luar tubuh maupun dari komponen organisme (Wulaningsih, 2010).

Fungsi utama kulit adalah sebagai pelindung dari berbagai macam gangguan dan rangsangan dari luar. Fungsi perlindungan ini terjadi melalui mekanisme biologis, seperti pembentukan lapisan tanduk secara terus menerus atau yang biasa

dikenal dengan keratinisasi dan pelepasan sel-sel yang sudah mati, selain itu juga terjadi pembentukan pigmen melanin untuk melindungi kulit dari sinar radiasi ultraviolet, sebagai peraba dan perasa serta pertahanan terhadap infeksi dari luar. Kulit mencegah dehidrasi, menjaga kelembaban kulit, pengaturan suhu, serta memiliki sifat penyembuhan diri. Kulit mempunyai ikatan yang kuat terhadap air. Apabila kulit mengalami luka atau retak, daya ikat terhadap air akan berkurang. Kulit menjaga suhu tubuh agar tetap normal dengan cara melepaskan keringat ketika tubuh terasa panas. Keringat tersebut menguap sehingga tubuh terasa dingin. Ketika seseorang merasa kedinginan, pembuluh darah dalam kulit akan menyempit.

Kulit melindungi bagian dalam tubuh terhadap gangguan fisik maupun mekanik, misalnya tekanan, gesekan dan tarikan, gangguan kimiawi, seperti zat-zat kimia iritan, serta gangguan panas atau dingin. Gangguan fisik dan mekanik ditanggulangi dengan adanya bantalan lemak subkutan, ketebalan lapisan kulit, serta serabut penunjang pada kulit. Gangguan kimiawi ditanggulangi dengan adanya lemak permukaan kulit yang berasal dari kelenjar kulit yang mempunyai pH 5,0-6,6 (Hidayati, 2009).

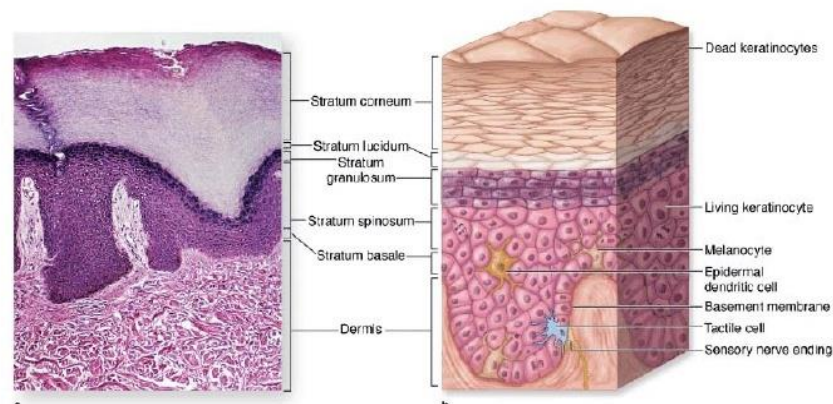
Menurut Kalangi (2013) kulit terdiri atas dua lapisan utama yaitu epidermis dan dermis. Epidermis merupakan jaringan epitel yang berasal dari ektoderm, sedangkan dermis berupa jaringan ikat agak padat yang berasal dari mesoderm. Di bawah dermis terdapat selapis jaringan ikat longgar yaitu hipodermis, yang pada beberapa tempat terutama terdiri dari jaringan lemak.

1) Epidermis

Epidermis merupakan lapisan paling luar kulit dan terdiri atas epitel berlapis gepeng dengan lapisan tanduk. Epidermis hanya terdiri dari jaringan epitel tidak mempunyai pembuluh darah maupun limfa, oleh karena itu semua nutrien dan oksigen diperoleh dari kapiler pada lapisan dermis.

Epitel berlapis pipih pada epidermis ini tersusun oleh banyak lapis sel yang disebut keratinosit. Sel-sel ini secara tetap diperbaharui melalui mitosis sel-sel dalam lapisan basal yang secara berangsur digeser ke permukaan epitel. Selama perjalanannya, sel-sel ini berdiferensiasi, membesar dan mengumpulkan filamen keratin dalam sitoplasmanya. Mendekati permukaan, sel-sel ini mati dan secara tetapi dilepaskan atau terkelupas. Waktu yang dibutuhkan untuk mencapai permukaan adalah 20 sampai 30 hari. Modifikasi struktur selama perjalanan ini disebut sitomorfosis dari sel-sel epidermis. Bentuknya yang berubah pada tingkatan berbeda dalam epitel memungkinkan pembagian dalam potongan histologi tegak lurus terhadap permukaan kulit.

Epidermis terdiri atas lima lapisan dari dalam keluar yaitu, stratum basal, stratum spinosum, stratum granulosum, stratum lusidum, dan stratum korneum.



Gambar 2.5 Lapisan Epidermis (Kalangi., 2013)

a. Stratum Basal

Lapisan ini terletak paling dalam dan terdiri atas satu lapis sel yang tersusun berderet di atas membran basal dan melekat pada dermis di bawahnya. Sel-selnya kuboid atau silindris. Intinya besar, jika dibanding dengan ukuran selnya serta sitoplasmanya basofilik. Pada lapisan ini biasanya terlihat gambaran mitotik sel, proliferasi selnya berfungsi untuk regenerasi epitel. Sel-sel pada lapisan ini bermigrasi ke arah permukaan untuk memasok sel-sel pada lapisan yang lebih superfisial. Pergerakan ini dipercepat oleh adanya luka dan regenerasinya dalam keadaan normal cepat.

b. Stratum Spinosum

Lapisan ini terdiri atas beberapa lapis sel yang besar berbentuk poligonal dengan inti lonjong. Sitoplasmanya kebiruan. Bila dilakukan pengamatan dengan pembesaran

obyektif 45x maka pada dinding sel yang berbatasan dengan sel di sebelahnya akan terlihat taju-taju yang seolah-olah menghubungkan sel yang satu dengan yang lainnya. Pada taju inilah terletak desmosom yang melekatkan sel-sel satu sama lain pada lapisan ini. Semakin ke atas bentuk sel semakin pipih.

c. Stratum Granulosum

Lapisan ini terdiri atas dua hingga empat lapis sel pipih yang mengandung banyak granula basofilik yang disebut granula keratohialin, yang dengan mikroskop elektron ternyata merupakan partikel amorf tanpa membran tetapi dikelilingi ribosom. Mikrofilamen melekat pada permukaan granula.

d. Stratum Lusidum

Lapisan ini dibentuk oleh dua hingga tiga lapisan sel pipih yang tembus cahaya atau bening dan agak eosinofilik. Tidak ada inti maupun organel pada sel-sel lapisan ini. Walaupun ada sedikit desmosom, tetapi pada lapisan ini adhesi kurang sehingga pada sajian seringkali tampak garis celah yang memisahkan stratum korneum dari lapisan lain di bawahnya

e. Stratum Korneum

Lapisan ini terdiri atas banyak lapisan sel-sel mati, pipih dan tidak berinti serta sitoplasmanya digantikan oleh keratin. Sel-sel yang terletak di permukaan merupakan sisik zat tanduk yang terdehidrasi dan selalu terkelupas.

2) Dermis

Dermis terdiri atas stratum papilaris dan stratum retikularis, batas antara kedua lapisan tersebut tidak jelas, serat di antaranya saling menjalin.

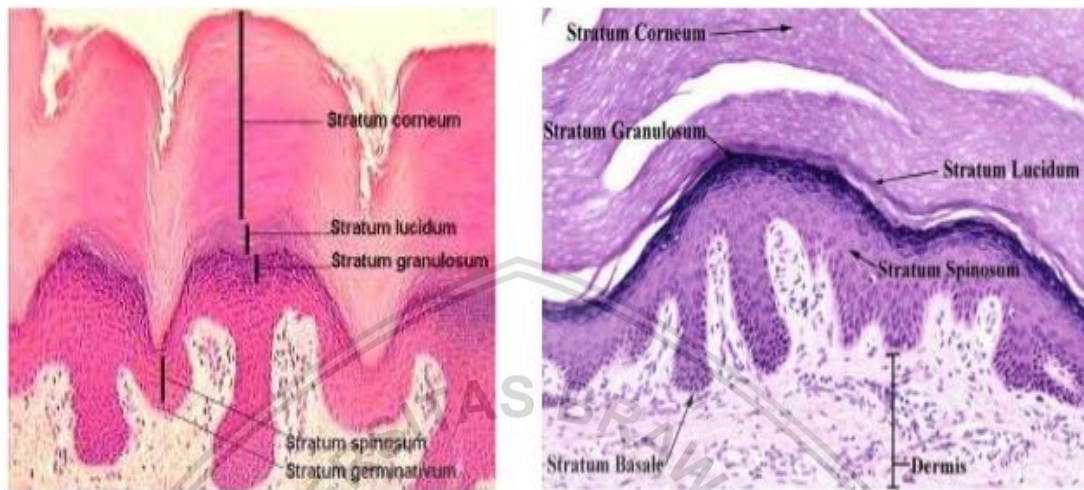
a. Stratum Papilaris

Lapisan ini tersusun lebih longgar, ditandai oleh adanya papila dermis yang jumlahnya bervariasi antara 50-250/mm². Jumlahnya terbanyak dan lebih dalam pada daerah dimana tekanan paling besar, seperti pada telapak kaki. Sebagian besar papila mengandung pembuluh-pembuluh kapiler yang memberi nutrisi pada epitel di atasnya. Papila lainnya mengandung badan akhir saraf sensoris yaitu badan Meissner. Tepat di bawah epidermis serat-serat kolagen tersusun rapat.

b. Stratum Retikularis

Lapisan ini lebih tebal dan dalam. Berkas-berkas kolagen kasar dan sejumlah kecil serat elastin membentuk jalinan yang padat ireguler. Pada bagian lebih dalam, jalinan lebih terbuka, rongga-rongga di antaranya terisi jaringan lemak, kelenjar keringat dan sebacea, serta folikel rambut. Serat otot polos juga ditemukan pada tempat-tempat tertentu, seperti folikel rambut, skrotum, preputium, dan puting. Pada kulit wajah dan leher, serat otot skelet menyusupi jaringan ikat pada dermis. Otot-otot ini berperan untuk ekspresi wajah. Lapisan retikular menyatu

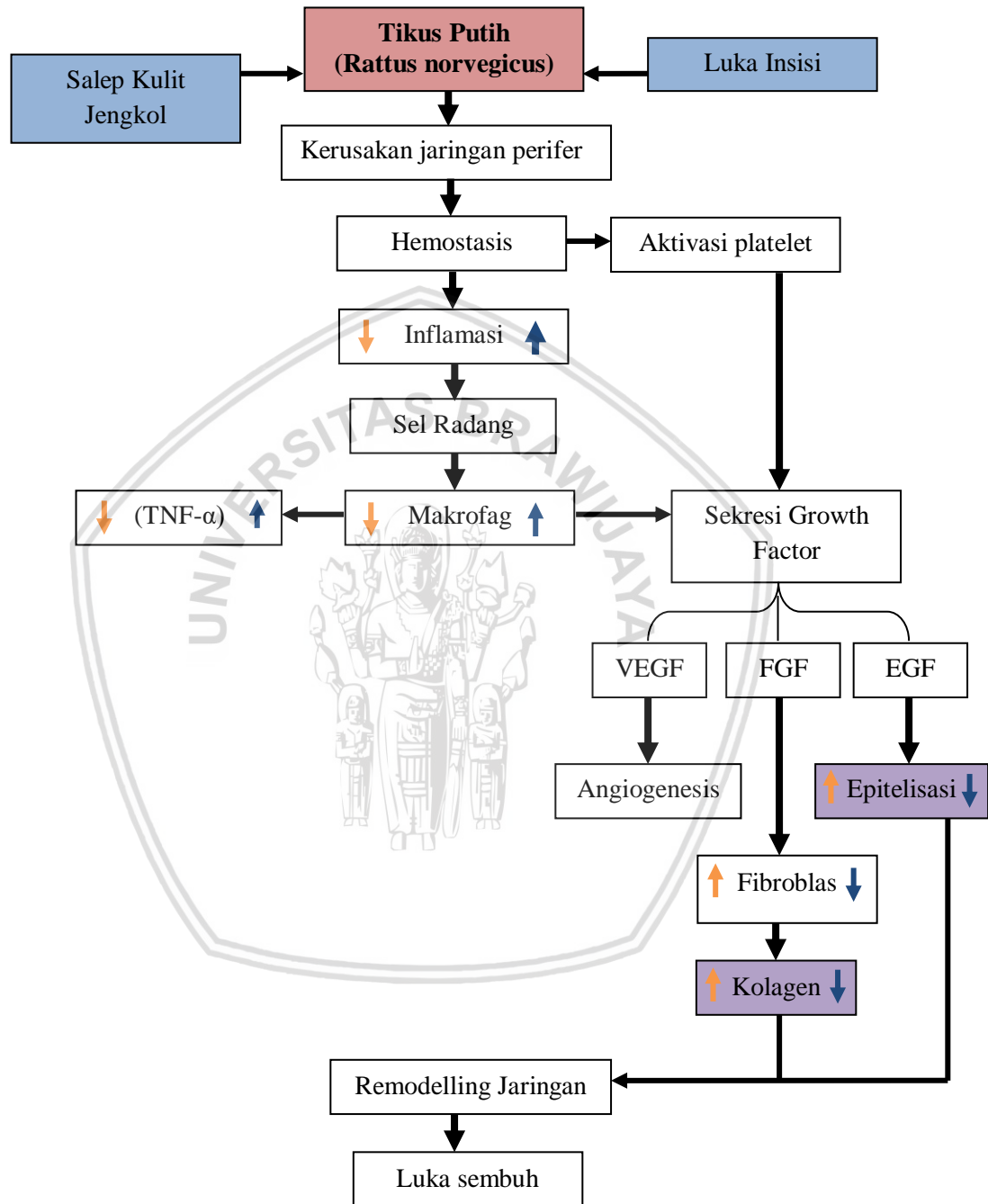
dengan hipodermis atau fascia superfisialis di bawahnya yaitu jaringan ikat longgar yang banyak mengandung sel lemak.



Gambar 2.6 Histologi Kulit Tikus (Novitasari, 2009)







BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL

3.1 Kerangka Konseptual



Gambar 3.1 Kerangka Konseptual

Keterangan :

-  : menstimulasi
-  : efek pemberian terapi salep jengkol
-  : efek luka insisi
-  : variabel terikat
-  : variabel bebas
-  : variabel kontrol

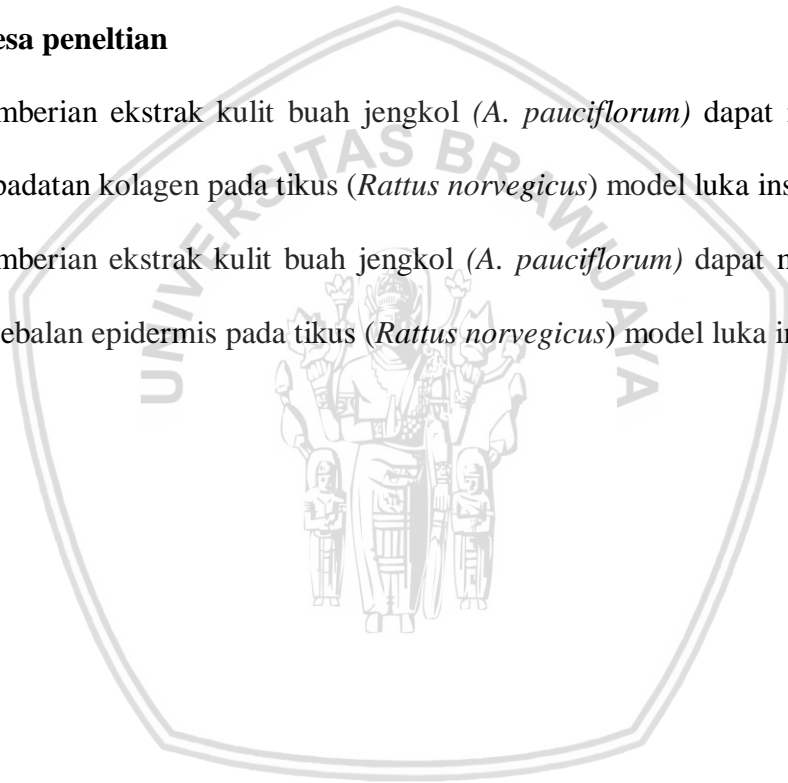
Luka insisi menyebabkan kerusakan jaringan perifer dan menimbulkan aktivasi atau agregasi platelet serta menyebabkan terjadinya proses hemostasis. Platelet akan menstimulasi Growth Factor seperti VEGF, FGF dan EGF yang akan berperan pada fase proliferasi. Fase yang terjadi selanjutnya adalah fase inflamasi dimana normalnya sel-sel radang serta makrofag akan mengalami peningkatan sehingga $\text{TNF}\alpha$ juga akan mengalami peningkatan. Ketika jumlah sel-sel radang meningkat fase inflamasi tidak akan berlangsung secara cepat sehingga fase proliferasi tidak dapat berlangsung. Fase ketiga adalah proliferasi, selain platelet makrofag juga turut membantu dalam proses inisiasi growth factor. Growth factor ini akan mensekresikan VEGF yang berfungsi pada proses angiogenesis, EGF yang berperan dalam proses epitelisasi dan FGF yang akan memproduksi *fibroblast* yang berperan dalam produksi kolagen. Jika luka tidak segera masuk ke fase proliferasi maka produksi growth factor tidak akan tinggi sehingga luka tidak akan cepat sembuh.

Flavonoid yang terkandung dalam ekstrak kulit buah jengkol dapat menurunkan jumlah sel-sel radang dan makrofag sehingga jumlah $\text{TNF}\alpha$ juga mengalami penurunan dan fase inflamasi dapat dilalui dengan cepat. Sedangkan tanin

yang terkandung dalam ekstrak kulit buah jengkol dapat meningkatkan produksi growth factor seperti VEGF, EGF dan FGF sehingga dapat meningkatkan proses angiogenesis, pembentukan kolagen maupun epitel dan dapat mempercepat penutupan atau proses kesembuhan luka. Fase selanjutnya adalah fase maturasi atau remodeling yang akan terjadi proses penyembuhan luka pada jaringan dermal yang akan mengalami peningkatan tension atau kekuatan.

3.2 Hipotesa penelitian

1. Pemberian ekstrak kulit buah jengkol (*A. pauciflorum*) dapat meningkatkan kepadatan kolagen pada tikus (*Rattus norvegicus*) model luka insisi.
2. Pemberian ekstrak kulit buah jengkol (*A. pauciflorum*) dapat mempengaruhi ketebalan epidermis pada tikus (*Rattus norvegicus*) model luka insisi.



BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan selama dua bulan dari bulan Februari hingga April 2018. Pembuatan ekstrak kulit buah jengkol dilakukan di Laboratorium Materia Medica, Batu. Pembuatan salep ekstra kulit buah jengkol dilakukan di Laboratorium Farmakologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya. Pemeliharaan hewan coba beserta pemberian perlakuan dilakukan di Laboratorium Fisiologi Hewan, Universitas Islam Negeri Malang. Pembuatan preparat histopatologi kulit pewarnaan Masson's Trichome untuk kepadatan kolagen dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Kessima Malang sedangkan pembuatan preparat histopatologi pewarnaan HE untuk ketebalan epidermis serta pengamatan dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

4.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain kandang tikus hewan coba, seperangkat *disetting set*, oven, gelas ukur, lender, mikroskop Olympus BX51, pot organ, kasa steril, plester, wadah kaca tertutup dan toples.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar dengan berat badan 150-250 g berusia 8-12 minggu, pakan tikus, air minum tikus, kulit jengkol, formula pembuatan salep, NaCl fisiologis dengan konsentrasi 0,9%, ketamin, xylazine, alkohol dengan konsentrasi bertingkat (70%, 80%, 90%, 100%), minyak emersi, pewarna HE (*Hematoxyline Eosin*), formalin

dengan konsentrasi 10%, aquades, paraffin, larutan PBS pH 7,4, larutan xylol dan pewarna *Masson's Trichome*.

4.3 Sampel Penelitian

Sampel penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar yang memiliki berat badan 150-250 g dengan usia 8-12 minggu. Sebelum dilakukan percobaan tikus harus diadaptasi selama 7 hari untuk menyesuaikan keadaan tubuh tikus dengan kondisi sekitar (Lamanepa, 2005). Jumlah hewan coba yang digunakan sebagai sampel dihitung dengan rumus berikut:

$$t(n-1) \geq 15$$

$$5(n-1) \geq 15$$

$$5n - 5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Keterangan:

t: jumlah perlakuan

n: jumlah ulangan yang diperlukan

(Kusriningrum, 2008)

Berdasarkan rumus di atas, maka dalam pelaksanaan penelitian ini dibutuhkan hewan coba sejumlah 20 ekor yang dibagi dalam 5 perlakuan berbeda. Masing-masing perlakuan membutuhkan 4 kali ulangan, sehingga setiap perlakuan membutuhkan 4 ekor hewan coba.

4.4 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian *true experimental, post test control only design* dengan menggunakan metode statistika Rancangan Acak Lengkap (RAL). Sampel hewan coba yang berjumlah 20 ekor, dibagi dalam 5 perlakuan yang berbeda dan masing-masing menggunakan pengulangan sebanyak 4 kali.

Kelompok hewan coba pada penelitian ini adalah:

1. Kelompok K- (Kontrol Negatif) adalah kelompok hewan coba yang tidak diberi insisi dan tidak diberi terapi.
2. Kelompok PO (Perlakuan oxoferin®) adalah kelompok hewan coba yang diberi insisi dan diberi terapi obat paten (Oxoferin®).
3. Kelompok P1 (Perlakuan 1) adalah kelompok hewan coba yang diberi insisi dan diberi terapi salep ekstrak kulit buah jengkol dengan konsentrasi 5%.
4. Kelompok P2 (Perlakuan 2) adalah kelompok hewan coba yang diberi insisi dan diberi terapi salep ekstrak kulit buah jengkol dengan konsentrasi 10%.
5. Kelompok P3 (Perlakuan 3) adalah kelompok hewan coba yang diberi insisi dan diberi terapi salep ekstrak kulit buah jengkol dengan konsentrasi 15%.

4.5 Variabel Penelitian

Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah:

- a. Variabel bebas : Terapi salep ekstrak kulit buah jengkol (*A. pauciflorum*), luka insisi
- b. Variabel terikat : Kepadatan kolagen dan ketebalan epidermis
- c. Variabel kontrol :
 1. Homogenitas tikus (galur, jenis kelamin, berat badan, usia, suhu pemeliharaan, jenis pakan dan kandang).
 2. Penggantian kasa steril pada lokasi luka
 3. Intensitas pemberian terapi

4.6 Tahap Penelitian

Tahap penelitian pada penelitian ini antara lain adalah sebagai berikut:

- a. Persiapan hewan coba
- b. Pembuatan ekstraksi kulit buah jengkol
- c. Pembuatan salep ekstrak kulit buah jengkol
- d. Pemberian luka insisi pada hewan coba
- e. Terapi salep ekstrak kulit buah jengkol
- f. Pengambilan dan pembuatan preparat kulit
- g. Tahap pengamatan kepadatan kolagen dengan metode pewarnaan *Masson's Trihome*
- h. Analisa data

4.7 Prosedur Kerja

4.7.1 Persiapan Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar dengan berat badan berkisar 150-250 g dan usia 8-12 minggu. Hewan coba tersebut dibagi menjadi 5 kelompok, masing-masing kelompok berisikan 4 ekor hewan coba. Hewan coba dirawat di Laboratorium Fisiologi Hewan Universitas Islam Negeri Malang. Hewan coba dipelihara di dalam kandang balok plastik berukuran 17.5 x 23.75 x 17.5 cm yang diberi penutup dari kawat. Kandang tikus ditempatkan pada tempat yang bebas dari polutan dan stress.

4.7.2 Pembuatan Ekstraksi Kulit Buah Jengkol Dengan Etanol

Pembuatan ekstraksi dilakukan di laboratorium Materia Medica, Batu. Kulit buah jengkol sebanyak 2 kg langsung dipisahkan dari dagingnya, kulit jengkol dibersihkan kemudian dipotong-potong dan dikeringkan pada suhu 40°C selama 48 jam agar tidak merusak flavonoid. Setelah kulit buah jengkol mengering, maka selanjutnya dilakukan penggilingan agar butirannya menjadi lebih halus hingga menjadi serbuk. Ekstraksi kulit jengkol dilakukan dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%. Perbandingan etanol dan serbuk jengkol tersebut adalah 2:1. Maserasi dihasilkan dengan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40-50°C sampai diperoleh ekstrak etanol dalam bentuk cairan. Metode maserasi merupakan proses pengekstrakan simplisia dengan cara perendaman menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur kamar. Rendaman tersebut disimpan untuk mencegah reaksi yang dikatalisasi oleh cahaya (Syafnir dkk., 2014).

4.7.3 Pembuatan Salep Ekstrak Etanol Kulit Buah Jengkol

Pembuatan salep ekstrak kulit buah jengkol dilakukan di Laboratorium Farmakologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya. Ekstrak kulit buah jengkol diproses dalam bentuk sediaan salep agar bahan aktif pada ekstrak bertahan lama di atas permukaan kulit dan berpenetrasi secara maksimal ke dalam kulit. Ekstak kulit buah jengkol yang telah di dapat sebelumnya dihomogenisasi menggunakan mortar dengan basis salep vaselin *album*. Vaseline *album* dipilih karena memiliki dasar hidrokarbon yang

mempunyai waktu kontak dan absorpsi tinggi dibanding basis salep yang lain. Salep ekstrak kulit buah jengkol tersebut dibuat pada konsentrasi 5%, 10%, dan, 15% (Malini dkk., 2014).

Salep ekstrak kulit buah jengkol dibuat dengan cara menghomogenkan ekstrak kulit buah jengkol dengan basis salep. Basis salep yang digunakan adalah kombinasi antara PGA (*Pulvis Gummi Arabicum*) dan vaselin *album* dengan perbandingan 1:4. Sehingga untuk mendapatkan 3 salep ekstrak kulit buah jengkol dengan konsentrasi yang berbeda-beda, dibutuhkan komposisi sebagai berikut:

- a. Salep ekstrak kulit jengkol 5% → 5 g ekstrak kulit buah jengkol + 95 g basis salep (19 g PGA + 76 g vaselin *album*)
- b. Salep ekstrak kulit buah jengkol 10% → 10 g ekstrak kulit buah jengkol + 90 g basis salep (18 g PGA + 72 g vaselin *album*)
- c. Salep ekstrak kulit buah jengkol 15% → 15 g ekstrak kulit buah jengkol + 85 g basis salep (17 g PGA + 68 g vaselin *album*)

Semua bahan meliputi ekstrak kulit buah jengkol dan basis salep tersebut kemudian diletakkan pada mortar dan dihomogenkan menggunakan alu. Setelah itu, salep diletakkan pada wadah tertutup dan diberi label. Salep tersebut dipergunakan untuk perlakuan kelompok tikus P1, P2 dan P3.

4.7.4 Pembuatan Luka Inisi Pada Hewan Coba

Tikus yang digunakan sebagai hewan coba diadaptasikan pada kondisi laboratorium selama 7 hari. Tikus tersebut telah dikelompokkan menjadi lima

kelompok, masing-masing terdiri dari empat ekor tikus. Tikus tersebut diberi tanda pada bagian ekor dengan spidol *waterproof*. Lokasi insisi dibersihkan dari bulu hingga bersih, kemudian dioles dengan kapas alkohol 70% untuk sterilisasi dan dilakukan injeksi anastesi (ketamine dan xylazine) secara IM sebelum dilakukan insisi. Hal tersebut dilakukan untuk mempermudah peneliti dalam memberi perlakuan insisi pada hewan coba. Insisi diberikan pada hewan coba. Insisi diberikan pada hari ke delapan sepanjang 3 cm dengan kedalaman hingga subkutan pada daerah dorsal.

Luka pada tikus diberi terapi salep rutin setiap hari sebanyak 0,5g dengan frekuensi pemberian 2 kali sehari. Luka insisi dibalut menggunakan kasa steril agar luka tidak terkontaminasi dengan lingkungan. Pemberian pakan dan air minum dilakukan secara *ad libitum*, dan tikus diusahakan ada pada posisi yang nyaman serta leluasa untuk bergerak. Kandang juga dibersihkan secara rutin, mendapatkan cahaya, kelembaban, suhu yang cukup dan jauh dari kebisingan. Kandang yang digunakan adalah kandang kelompok yang disekat menjadi empat bagian dengan alas sekam.

4.7.5 Pemberian Terapi Salep Ekstrak Kulit Buah Jengkol

Masing-masing hewan coba diberi terapi dua kali sehari. Salep ekstrak kulit jengkol diberikan secara topikal, yaitu dengan cara mengoleskan tipis pada lokasi luka. Salep diberikan setidaknya sebanyak 0,5 g. Konsentrasi salep yang diberikan adalah salep ekstrak kulit buah jengkol 5% pada kelompok P1, salep ekstrak kulit buah jengkol 10% pada kelompok P2 dan salep ekstrak kulit buah jengkol 15% pada kelompok P3. Untuk kelompok PO

diberikan oxoferin[®]. Kelompok K- tidak diinsisi dan tidak diberi terapi apapun. Setelah dioleskan salep, lokasi luka segera ditutup dengan kasa steril agar tidak terkontaminasi. Lama terapi yang diberikan adalah 10 hari, yaitu pada hari ke delapan hingga hari ke-17.

4.7.6 Pengambilan dan Pembuatan Preparat Histopatologi Kulit

Euthanasia dan pengambilan jaringan kulit hewan coba dilakukan 10 hari setelah insisi atau hari ke 18 dan merupakan modifikasi dari penelitian Malini dkk. (2017). Euthanasia tikus dilakukan dengan cara *dislokasio os cervicalis*, kemudian mengeksisi bagian luka yang paling luar dan melibatkan sedikit jaringan kulit normal sekitar 0,5 cm dari tepi luka. Eksisi tersebut harus segera dimasukkan pada larutan formalin 10% sebelum dilakukan pembuatan preparat histologi.

Pembuatan preparat histopatologi kulit diawali dengan fiksasi jaringan, dimana eksisi biopsi kulit direndam dalam formalin 10% selama kurang lebih 18-24 jam. Setelah itu, jaringan segera dimasukkan pada akuades selama satu jam agar bersih dari larutan fiksasi. Tahap selanjutnya adalah dehidrasi, dimana eksisi biopsi dimasukkan pada larutan alkohol bertingkat 70% (30 bagian akuades + 70 alkohol absolut), 80% (20 bagian akuades + 80 alkohol absolut), 90% (10 bagian akuades + 90 alkohol absolut) dan 100%. Tahapan ini bertujuan agar memudahkan paraffin cair masuk dan mengisi ruang yang ada pada sel. Jaringan yang sudah lebih jernih tersebut dimasukkan dalam alkohol-xylol selama satu jam, dan xylol murni selama 2 x

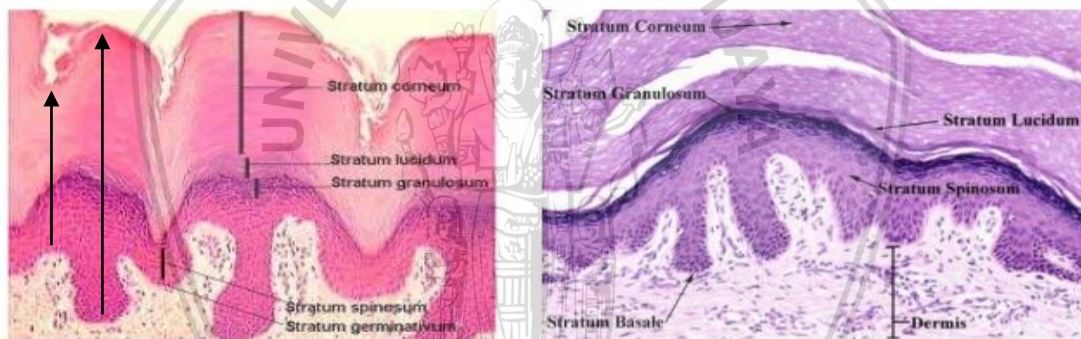
2 jam. Potongan jaringan tersebut bisa dimasukkan pada paraffin cair selama 2 x 2 jam.

Potongan jaringan yang telah dimasukkan pada paraffin cair ditunggu hingga memadat. Jaringan dalam paraffin tersebut dipotong dengan ketebalan 5 mikron dengan menggunakan mikrotom sebanyak 2 potongan. Potongan jaringan yang pertama diletakkan pada *object glass* yang telah dilapisi *gelatin* sebagai perekat untuk pewarnaan *Masson's Trichome*. Potongan jaringan yang kedua diletakkan pada *object glass* yang telah dilapisi *gelatin* sebagai perekat untuk pewarnaan HE. Jaringan yang telah ada pada *object glass* tersebut dipanaskan pada inkubator bersuhu 56°C-58°C agar paraffin di dalamnya dapat mencair kembali.

4.7.7 Pewarnaan HE dan Pengukuran Ketebalan Epidermis

Potongan sediaan histopatologi tersebut diwarnai dengan pewarnaan HE (*Hematoxyline Eosin*) agar inti sel bisa nampak berwarna biru (*basofilik*) dan sitoplasma serta jaringan ikat berwarna merah muda (*eosinofilik*). Pewarnaan dilakukan dengan cara deparaffinasi dengan xylol, dilanjutkan rehidrasi dengan alkohol turun bertingkat 95%, 90%, 80%, dan 70% masing-masing selama lima menit. Kemudian jaringan tersebut dicuci dengan air mengalir selama 15 menit dan akuades selama lima menit. Jaringan kemudian diwarnai dengan pewarnaan HE selama sepuluh menit, dicuci dengan air mengalir selama 30 menit dan akuades selama lima menit. Jaringan yang terwarnai tersebut kemudian diberi perlakuan dehidrasi kembali dengan alkohol bertingkat 70%, 80%, 90% dan 95% masing-masing selama lima

menit. Lalu dilanjutkan dengan tahap *clearing* dengan larutan xylol I, II dan III selama tiga menit. Tahap terakhir dari pembuatan preparat histologi adalah *mounting* dengan larutan Entelan dan kemudian ditutup dengan *cover glass* (Ditha, 2015). Seluruh rangkaian pembuatan preparat histologi ini dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Kessima Malang. Pengukuran ketebalan epidermis diukur menggunakan micrometer dari stratum korneum hingga stratum basale (Gambar 4.1) dan data yang diperoleh akan dianalisa menggunakan SPSS dengan analisa statistik *one way ANOVA* dilanjutkan dengan uji *Tukey* dengan angka kepercayaan 95%.



Gambar 4.1 Lapisan Epidermis Kulit Tikus (Novitasari., 2009)

4.7.8 Pewarnaan *Masson's Trichome* dan Pengamatan Kepadatan Kolagen

Pewarnaan *Masson's Trichome* adalah pewarnaan yang khusus untuk serat elastin dan retikulen, serat retikulen merupakan serat kolagen yang kaya akan selubung glikoprotein. Pewarnaan *Masson's Trichome* akan memberikan warna ungu hingga hitam pada inti sel, warna biru hingga hijau pada kolagen dan warna merah pada otot, sitoplasma dan keratin (Triyono, 2005).

Pewarnaan ini dimulai dengan proses deparaffinisasi dan rehidrasi. Pertama ditetaskan larutan Neutral Red 0,5% selama lima menit, kemudian dicuci dengan air mengalir selama lima menit lalu dibilas menggunakan aquades. Ditetaskan larutan Acis Fucshin selama lima menit yang kemudian dicuci dengan aquades selama lima menit. Selanjutnya, ditetaskan larutan Methyl blue selama dua hingga lima menit dan kemudian dibilas dengan aquades selama lima menit. Ditetaskan larutan Acetid acid 1% selama dua menit setelahnya dilakukan dehidrasi menggunakan alkohol 95% dan 100%. Dibersihkan menggunakan xylene sebanyak dua kali yang selanjutnya dilakukan mounting dengan balsam kanada dan ditutup dengan *cover glass*.

Pengamatan kepadatan kolagen dilakukan dengan pengamatan menggunakan mikroskop Olympus seri EX51 dengan perbesaran 400 kali pada satu lapang pandang. Pengamatan kolagen dilakukan di area insisi yang kemudian diinterpretasikan secara deskriptif (Novriansyah, 2008).

4.8 Analisa Data

Analisa data yang digunakan yaitu analisa deskriptif untuk parameter kepadatan kolagen dan data kuantitatif untuk perhitungan parameter ketebalan epidermis menggunakan software IBM SPSS Statistic 22 kemudian dianalisis menggunakan *one way Analysis of Variance* (ANOVA) dilanjutkan dengan uji *Tukey* dengan angka kepercayaan 95%. Uji *one way* ANOVA dan uji BNJ digunakan untuk mengetahui apakah tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberi terapi menggunakan salep ekstrak kulit buah jengkol (*A. pauiflorum*) memberikan pengaruh terhadap parameter yang diamati.

BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

1.1 Gambaran Makroskopik Hasil Terapi Salep Ekstrak Kulit Jengkol (*Archidendron pauciflorum*) Pada Proses Kesembuhan Luka Insisi Pada Tikus (*Rattus norvegicus*)

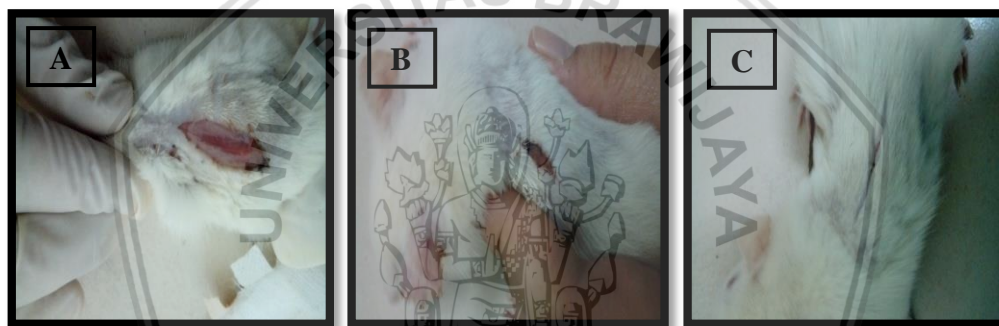
Pada penelitian kali ini dilakukan pembuatan luka insisi dengan menggunakan gunting. Sebelumnya, daerah yang akan diinsisi dicukur terlebih dahulu menggunakan silet dan diukur menggunakan jangka sorong sepanjang 3 cm untuk mengukur panjang insisi luka. Daerah yang akan diinsisi dibersihkan terlebih dahulu dengan larutan povidon iodine dan baru dilakukan insisi menggunakan gunting hingga kedalaman mencapai subcutan (**Gambar 5.1A**). Setelah dilakukan insisi maka tikus siap diberikan perlakuan menurut kelompok masing-masing dan luka dibalut menggunakan kasa steril dan leukoplas untuk menjaga agar luka tetap steril (**Gambar 5.1B**).



Gambar 5.1 Luka Insisi pada hewan coba

Keterangan A. Pembuatan luka insisi B. Luka diberi bandage supaya tetap steril

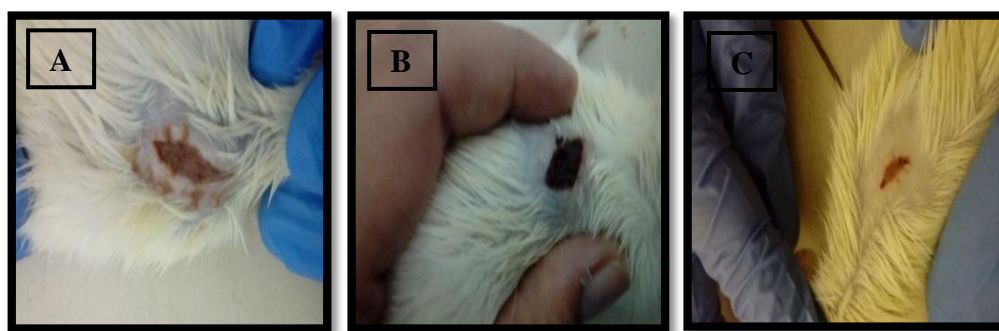
Setelah tikus diinsisi sepanjang 3cm, kemudian tikus diberi terapi salep ekstrak kulit buah jengkol (*Archidendron pauciflorum*) dengan konsentrasi 5% untuk kelompok P1, 10% untuk kelompok P2 dan 15% untuk kelompok P3 secara topikal sebanyak 0,5 g salep dua kali sehari selama 10 hari pada area insisi. Gambaran makroskopik pada luka insisi kelompok oxoferin® atau PO yang diterapi menggunakan oxoferin menunjukkan perbedaan yang signifikan setelah dilakukan terapi selama 10 hari menunjukkan perubahan berupa berkurangnya luas luka pada tiap tikus (**Gambar 5.2**)



Gambar 5.2 Tikus kelompok terapi Oxoferin®

Keterangan A. Hari ke 3 luka masih tampak lebar dan berwarna merah tanda luka masih mengalami fase inflamasi B. Hari Ke 7 ada sebagian luka yang tampak sudah menutup dan ditumbuhi oleh rambut namun ada sebagian luka yang masih tampak terbuka namun sudah tidak menunjukkan kemerahan yang berarti fase inflamasi telah usai dan mulai memasuki fase proliferasi C. Hari ke 10 luka sudah menutup dan ditumbuhi oleh rambut

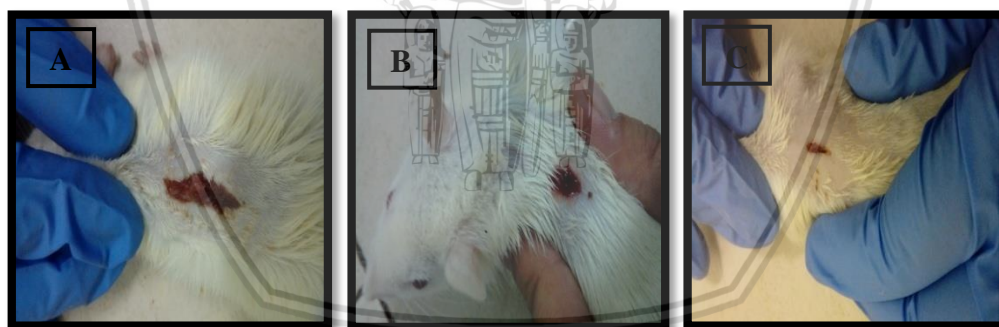
Gambaran makroskopis pada luka insisi kelompok perlakuan 1 atau P1 menggunakan salep ekstrak kulit jengkol dengan konsentrasi 5% menunjukkan perbedaan pada luas luka seperti **Gambar 5.3**



Gambar 5.3 Tikus kelompok perlakuan 1 terapi salep kulit jengkol 5%

Keterangan A. Hari ke 3 luka tampak lebar berwarna merah luka masih dalam fase inflamasi B. Hari Ke 7 diameter luka mengecil dan tidak berwarna merah luka sudah memasuki fase proliferasi, luka sudah menutup sebagian dan ditumbuhi rambut C. Hari ke 10 diameter luka sudah mulai mengecil namun masih ada bagian kulit yang belum menutup sempurna

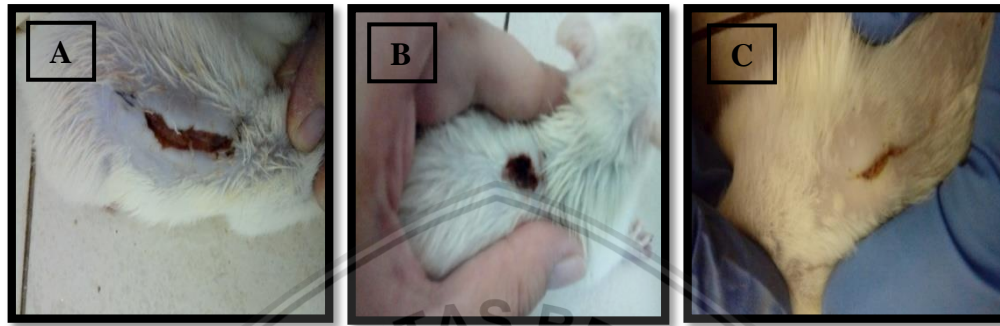
Gambaran makroskopis pada luka insisi kelompok perlakuan 2 atau P2 menggunakan salep ekstrak kulit jengkol dengan konsentrasi 10% menunjukkan perbedaan pada luas luka seperti **Gambar 5.4**



Gambar 5.4 Tikus kelompok perlakuan 2 terapi salep kulit jengkol 10%

Keterangan A. Hari ke 3 luka masih lebar dan masih tampak berwarna merah tanda luka masih berada dalam fase inflamasi B. Hari Ke 7 diameter luka mulai mengecil dan sudah tidak berwarna kemerahan pertanda luka sudah memasuki fase proliferasi, ada bagian luka yang sudah menutup dan ditumbuhi oleh rambut C. Hari ke 10 diameter luka lebih kecil dibandingkan hari ke-7 namun masih ada bagian luka yang belum menutup sempurna

Gambaran makroskopis pada luka insisi kelompok perlakuan 3 atau P3 menggunakan salep ekstrak kulit jengkol dengan konsentrasi 15% menunjukkan perbedaan pada luas luka seperti **Gambar 5.5**



Gambar 5.5 Tikus kelompok perlakuan 3 terapi ekstrak kulit jengkol 15%

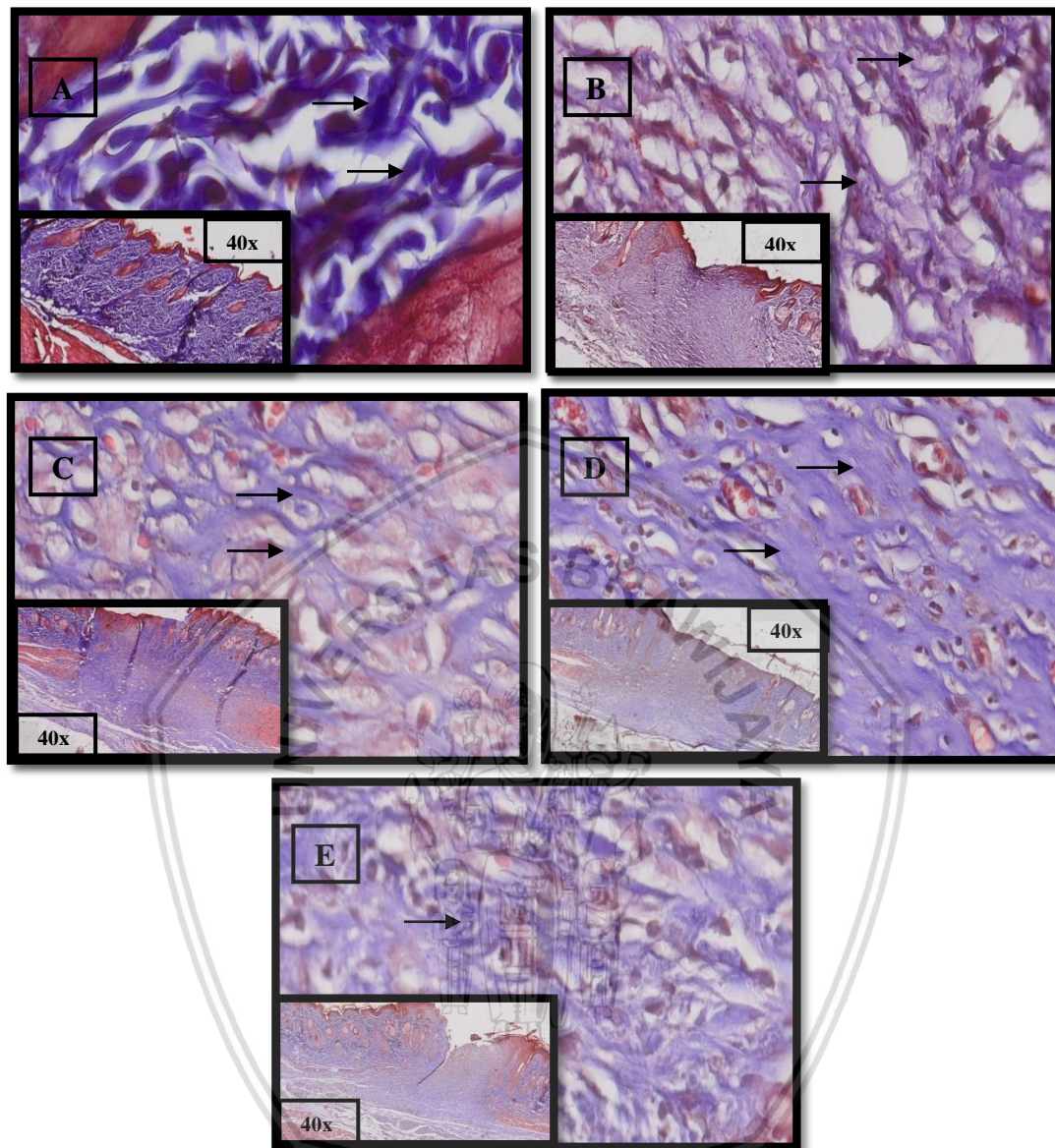
Keterangan A. Hari ke 3 luka tampak masih lebar dan merah tanda luka masih dalam fase inflamasi B. Hari Ke 7 diameter luka mulai mengecil namun sudah tidak berwarna merah tanda luka memasuki fase proliferasi, sebagian luka sudah menutup dan ditumbuhi oleh rambut C. Hari ke 10 diameter luka lebih kecil dibandingkan dengan hari ke-7 namun masih ada luka yang belum menutup sempurna

Kelompok kontrol negatif tidak diberi luka insisi maupun terapi. Luka yang terlihat paling cepat menutup adalah kelompok perlakuan oxoferin® dan kelompok salep 10%. Kelompok perlakuan oxoferin® terlihat menutup namun belum sempurna dan meninggalkan bekas memanjang seperti luka insisi. Sedangkan pada kelompok salep 10% sebagian luka sudah menutup sempurna dan sudah ditumbuhi rambut namun ada sedikit bagian yang masih terbuka. Kelompok dengan kesembuhan paling lambat ditunjukkan oleh kelompok salep 5% dilihat dari luas luka yang terbuka yang lebih lebar daripada kelompok salep 15%.

1.2 Terapi Ekstrak Kulit Jengkol (*Archidendron pauciflorum*) Terhadap Kepadatan Kolagen Pada Proses Kesembuhan Luka Insisi Pada Tikus (*Rattus norvegicus*)

Pengamatan hasil penelitian pengaruh pemberian salep ekstrak kulit jengkol (*A. pauciflorum*) terhadap kepadatan kolagen diamati melalui histopatologi kepadatan kolagen dengan menggunakan pewarnaan *Masson's Thricome*. Pewarnaan ini akan mewarnai jaringan ikat kolagen dengan warna biru. Gambaran mikroskopis luka insisi dengan pewarnaan kolagen akan tampak seperti **Gambar 5.6**.

Kontrol negatif merupakan kelompok tikus sehat yang tidak mendapatkan insisi dan terapi serta digunakan sebagai pembanding peningkatan kepadatan kolagen pada kelompok terapi dimana kontrol negatif menjadi indikator normal bentuk dan kepadatan kolagen. Berdasarkan **Gambar 5.6** pewarnaan kolagen tampak berwarna biru keunguan. Kolagen pada tikus kontrol negatif **Gambar 5.6 A** terwarnai biru jelas dan jarak antara kolagen padat. Pada kelompok P2 terapi salep ekstrak kulit jengkol konsentrasi 10% **Gambar 5.6 D** memiliki kepadatan kolagen yang paling padat dengan jarak yang rapat jika dibandingkan dengan dua kelompok terapi yang lainnya dan paling mendekati kepadatan kolagen pada kelompok tikus sehat. Pada kelompok tikus P1 terapi salep ekstrak kulit jengkol konsentrasi 5% **Gambar 5.6 C** dan kelompok perlakuan pemberian obat paten oxoferin® **Gambar 5.6 B** merupakan tikus dengan jarak antar serabut kolagen jarang dan masih terdapat sel yang terwarnai dengan warna merah berarti luka belum memasuki fase proliferasi secara sempurna. Sedangkan untuk kelompok tikus dengan terapi salep ekstrak kulit jengkol 15% menunjukkan hasil jarak antar serabut kolagen yang sedang **Gambar 5.6 E**.



Gambar 5.6 Gambaran histopatologi jaringan kulit tikus pewarnaan MT

Keterangan A. Kolagen tikus sehat. B. Kolagen tikus terapi oxoferin. C. Kolagen tikus terapi salep ekstrak kulit jengkol 5%. D. Kolagen tikus terapi salep ekstrak kulit jengkol 10%. E. Kolagen tikus terapi salep ekstrak kulit jengkol 15%. Kolagen berwarna biru keunguan. Seluruh kelompok perlakuan tampak adanya pertumbuhan kolagen, untuk kepadatannya tikus sehat dan salep 10% memiliki jarak kolagen padat. Jarak kolagen pada terapi oxoferin® dan salep 5% jarang sedangkan jarak antara kolagen pada salep 15% adalah sedang. Pada hari ke-10 tikus memasuki fase proliferasi dengan ciri neovaskularisasi, reepitel dan sintesa kolagen.

Tabel 5.1 Pertumbuhan dan kepadatan kolagen hewan coba

Kelompok Perlakuan	Pertumbuhan Kolagen		Jarak Antar Kolagen		
	Tumbuh	Tidak Tumbuh	Jarang	Sedang	Padat
K-	V	-	-	-	V
PO	V	-	V	-	-
P1	V	-	V	-	-
P2	V	-	-	-	V
P3	V	-	-	V	-

Menurut tabel di atas dapat dilihat bahwa kelompok dengan pertumbuhan dan kepadatan kolagen paling baik adalah kelompok salep 10% yang serabut kolagennya hampir menyamai tikus sehat. Kelompok yang menunjukkan pertumbuhan kolagen dengan kepadatan yang rendah ditunjukkan oleh terapi oxoferin® dan salep 5%.

K- merupakan kelompok tikus sehat yang tidak diberi perlakuan insisi maupun terapi. Hal ini menjadikan kelompok tikus K- menjadi indikator kepadatan kolagen dari tikus yang sehat. Pada preparat histopatologi dengan pewarnaan *Masson's Trichome* kolagen pada kulit tikus sehat tampak berwarna ungu padat dan serabut kolagennya tampak lebih teratur jika dibandingkan dengan kolagen pada kulit tikus dengan perlakuan insisi.

PO merupakan kelompok tikus insisi yang diberi terapi menggunakan obat paten oxoferin. Kandungan dari oxoferin ini sendiri adalah Chlor-(IV)-oxide oxygen complex (4:1) hydrate 0,001037%, Glycerine 2% dan Aquadest 98%. Oxoferin merupakan larutan yang mengandung kompleks pembawa oksigen yang bersifat non

metal yang diaktifkan melalui sistem biokatalis. Kompleks senyawa oksigen ini masuk ke jaringan dan merangsang proses fagositosis dan pembersihan luka. Sesudah di aktifkan oleh sistem biokatalis kompleks senyawa oksigen terurai menjadi metabolit-metabolit fisiologis yaitu oksigen dan klorida. Akibatnya, tekanan parsial oksigen meningkat pada daerah luka (Hardjosaputra, 2008).

Oksigen akan memicu meningkatnya fibroblas dan angiogenesis yang menyebabkan neovaskularisasi jaringan luka, sintesis kolagen, dan peningkatan efek fagositik dari leukosit. Selanjutnya akan terjadi peningkatan dan perbaikan aliran darah mikrovaskular. Densitas kapiler meningkat sehingga daerah perlukaan akan memperoleh nutrisi untuk regenerasi. Pemberian oksigen juga akan meningkatkan sintesis VEGF dan melalui siklus krebs akan terjadi peningkatan NADH yang memicu peningkatan fibroblas. Fibroblas diperlukan untuk sintesis proteoglikan dan bersama dengan VEGF akan memacu sintesis kolagen pada proses *remodelling*, salah satu tahapan dalam penyembuhan luka. Oksigen penting dalam hidroksilasi lisin dan prolin selama proses sintesis kolagen dan untuk penyatuan dan pematangan kolagen. Kekurangan oksigen akan menyebabkan gangguan sintesis kolagen (Wibowo, 2015)

Pada kelompok tikus P1 yaitu tikus dengan luka insisi dengan terapi salep ekstrak kulit buah jengkol konsentrasi 5% **Gambar 5.6 C** menunjukkan adanya pertumbuhan kolagen namun dengan kepadatan rendah atau jarang pada preparat histopatologi. Hal ini sesuai dengan penelitian Mukherjee (2015) yang menyatakan bahwa jika konsentrasinya ekstrak tumbuhan yang digunakan sebagai bahan obat terlalu rendah maka kandungan bioaktif pada ekstrak tersebut juga semakin sedikit dan fungsi biologisnya juga akan rendah yang menyebabkan tidak adanya perubahan atau

terapi yang berarti. Pada kelompok tikus P3 atau tikus dengan luka insisi dengan terapi menggunakan salep ekstrak kulit buah jengkol konsentrasi 15% **Gambar 5.6 E** merupakan kelompok tikus dengan jarak antar serabut kolagen renggang. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Mukherjee (2015) yang menyatakan jika ekstrak tumbuhan obat yang digunakan dengan konsentrasi yang terlalu tinggi dapat bersifat toksik dan tidak akan memberikan efek terapi yang optimal. Selain itu Rahayu (2016) mengungkapkan bahwa ekstrak tumbuhan dengan konsentrasi pekat dapat menyebabkan pembentukan keropeng yang keras dan cukup tebal serta menempel pada permukaan luka sehingga menghambat distribusi zat aktif pada daerah luka dan menghambat kesembuhan luka. Pada kelompok tikus P2 atau tikus dengan luka insisi dengan terapi salep ekstrak kulit buah jengkol konsentrasi 10% merupakan kelompok tikus yang memiliki pertumbuhan kolagen yang bagus dengan intensitas serabut kolagen yang padat hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Malini (2017) yang menunjukkan bahwa konsentrasi salep ekstrak kulit jengkol yang paling cepat dalam menyembuhkan luka adalah 10% yaitu terapi pada kelompok perlakuan P2.

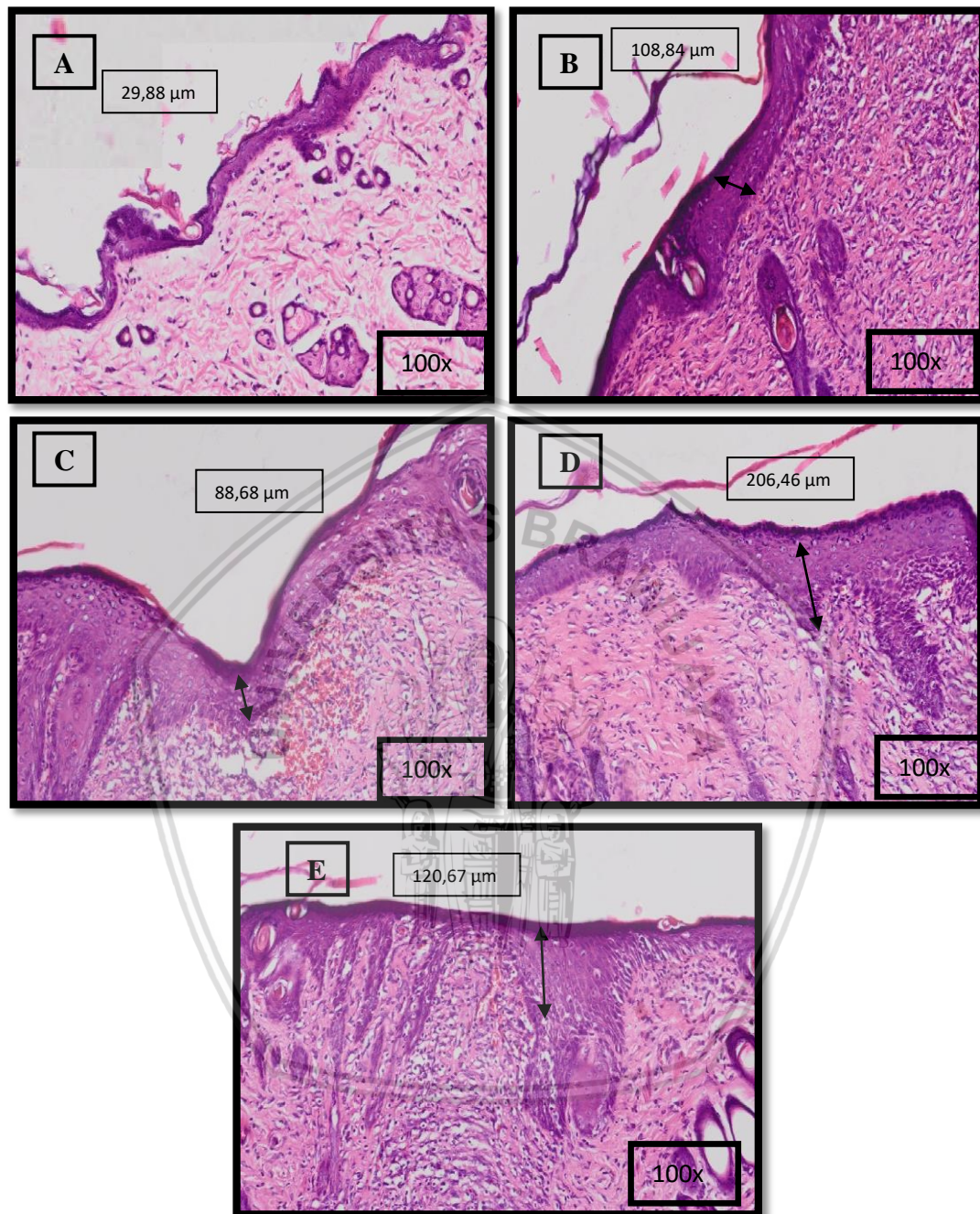
Migrasi dan proliferasi yang meningkat akan mempengaruhi peningkatan pembentukan kolagen karena fibroblas berperan penting dalam pembentukan kolagen pada area luka. Kolagen merupakan salah satu rangkaian dari fase proliferasi yang dimulai pada hari ketiga pasca perlukaan sebagai salah satu faktor penyembuhan luka. Salep ekstrak kulit jengkol mengandung flavonoid yang dapat menurunkan jumlah sel-sel radang serta makrofag sehingga faktor inflamasi mengalami penurunan dan fase inflamasi dapat dilalui dengan cepat. Sedangkan tanin yang terkandung dalam ekstrak kulit buah jengkol dapat meningkatkan produksi growth factor seperti

VEGF, EGF dan FGF sehingga dapat meningkatkan proses angiogenesis, pembentukan kolagen maupun epitel dan dapat mempercepat penutupan atau proses kesembuhan luka (Malini, 2017). Hasil dari pengamatan kepadatan kolagen menunjukkan bahwa salep ekstrak kulit buah jengkol dengan konsentrasi 10% memberikan pengaruh paling baik dibandingkan dengan konsentrasi salep 5% dan 15%.

1.3 Terapi Salep Ekstrak Kulit Jengkol (*Archidendron pauciflorum*) Terhadap Ketebalan Epidermis Pada Proses Kesembuhan Luka Insisi Pada Tikus (*Rattus norvegicus*)

Kulit terdiri atas dua lapisan utama yaitu epidermis dan dermis. Epidermis merupakan jaringan epitel yang berasal dari ektoderm, sedangkan dermis berupa jaringan ikat agak padat yang berasal dari mesoderm. Lapisan epidermis sendiri terdiri dari beberapa lapisan stratum yaitu stratum korneum, stratum lucidum, stratum granulosum, stratum spinosum dan stratum basale. Sedangkan dermis tersusun atas dua stratum yaitu stratum papilar dan stratum retikuler (Kalangi, 2013).

Ketebalan epidermis diukur menggunakan *microruller* pada *software Image Raster* kemudian data akan dianalisis secara statistik menggunakan uji ANOVA dan dilanjutkan dengan uji *Tukey* dengan angka kepercayaan 95%. Gambaran histopatologi kulit tikus dengan pewarnaan HE dapat di lihat pada **Gambar 5.7**



Gambar 5.7 Gambaran histopatologi jaringan kulit tikus dengan pewarnaan HE.

Keterangan **A.** Epidermis tikus sehat. **B.** Epidermis tikus terapi oxoferin®. **C.** Epidermis tikus diterapi salep ekstrak kulit jengkol konsentrasi 5%. **D.** Epidermis tikus diterapi salep ekstrak kulit jengkol konsentrasi 10%. **E.** Epidermis tikus diterapi salep ekstrak kulit jengkol konsentrasi 15%.

Tabel 5.2 Rata-rata ketebalan epidermis pada kulit tikus

Perlakuan	Rata-rata ketebalan epidermis (μm) \pm SD
K- (Tikus Sehat)	28,17 \pm 1,74 ^a
PO (Terapi Oxoferin)	106,29 \pm 4,95 ^c
P1 (Salep Kulit Jengkol 5%)	89,47 \pm 2,93 ^b
P2 (Salep Kulit Jengkol 10%)	210,15 \pm 5,90 ^e
P3 (Salep Kulit Jengkol 15%)	122,49 \pm 3,94 ^d

Keterangan Notasi a, b, c, d dan e menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$) antar perlakuan

Hasil uji normalitas dan uji homogenitas varian menunjukkan nilai signifikansi ($p > 0,05$), dapat disimpulkan bahwa data yang digunakan mempunyai distribusi dan homogenitas yang normal, sehingga dilanjutkan dengan uji *one way* ANOVA pada **Tabel 5.2** menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$) antar perlakuan dan salep ekstrak kulit jengkol dapat meningkatkan proses reepitelisasi (**Lampiran 5**). Hasil uji *Tukey* menunjukkan kelompok perlakuan salep ekstrak kulit jengkol memiliki perbedaan yang nyata dengan kelompok perlakuan oxoferin® yang ditandai dengan notasi (**Tabel 5.2**). Pada tabel terlihat bahwa pertumbuhan epidermis pada masing-masing perlakuan yaitu kontrol negatif PO (perlakuan oxoferin), P1, P2 dan P3 menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan yang ditunjukkan dengan terjadinya peningkatan rata-rata ketebalan epidermis yang ditunjukkan dengan notasi a, b, c, d dan e. Hal ini menunjukkan bahwa salep ekstrak kulit jengkol dengan konsentrasi 10% merupakan konsentrasi optimum untuk dosis

terapi dengan rata-rata ketebalan epidermis mencapai 210,15 μm dan sesuai dengan parameter kepadatan kolagen dan penelitian yang dilakukan oleh Malini (2017).

K- merupakan kelompok tikus sehat yang tidak diberi perlakuan insisi maupun terapi. Hal ini menjadikan kelompok tikus K- menjadi indikator ketebalan epidermis dari tikus yang sehat dengan tebal rata-rata 28,17 μm . Pada preparat histopatologi dengan pewarnaan HE jaringan kulit sitoplasma tampak terwarnai merah sedangkan inti sel terwarnai ungu pada kulit tikus sehat tampak lapisan epidermis yang tipis dan masih utuh serta masih terdapat lapisan tanduk di lapisan paling atas. Epidermis tampak lebih teratur jika dibandingkan dengan ketebalan epidermis pada kulit tikus dengan perlakuan insisi. Epidermis terdiri dari lima stratum dan terdiri dari epitel berlapis pipih yang dilapisi oleh lapisan tanduk.

Pada preparat kelompok tikus PO yaitu kelompok tikus dengan luka insisi terapi obat paten oxoferin[®] menunjukkan pertumbuhan epidermis yang tebal dengan rata-rata 106,29 μm . Hal ini menunjukkan bahwa fase luka pada kelompok tikus terapi oxoferin[®] sudah memasuki fase proliferasi. Oxoferin merupakan larutan yang mengandung kompleks pembawa oksigen yang bersifat non metal yang diaktifkan melalui sistem biokatalis. Kompleks senyawa oksigen ini masuk ke jaringan dan merangsang proses fagositosis dan pembersihan luka. Sesudah di aktifkan oleh sistem biokatalis kompleks senyawa oksigen terurai menjadi metabolit-metabolit fisiologis yaitu oksigen dan klorida. Akibatnya, tekanan parsial oksigen meningkat pada daerah luka (Hardjosaputra, 2008).

Kelompok tikus terapi P1 yaitu terapi salep ekstrak kulit buah jengkol dengan konsentrasi 5% juga menunjukkan adanya pertumbuhan epitel namun lebih tipis

dibandingkan dengan kelompok terapi oxoferin® dengan tebal rata-rata 89,47 μm . Rata-rata tebal pertumbuhan epitel pada kelompok salep 5% ini merupakan pertumbuhan epitel yang paling tipis dibandingkan dengan kelompok tikus terapi lainnya. Kelompok tikus terapi P2 yaitu terapi salep ekstrak kulit buah jengkol dengan konsentrasi 10% menunjukkan adanya pertumbuhan epitel yang jauh lebih baik dibandingkan kelompok terapi oxoferin® maupun kelompok terapi salep 5% dan merupakan kelompok dengan paling tebal dibandingkan dengan kelompok tikus terapi yang lainnya dengan tebal rata-rata mencapai 210,15 μm . Sedangkan untuk kelompok tikus terapi P3 yaitu terapi salep ekstrak kulit buah jengkol dengan konsentrasi 15% menunjukkan adanya pertumbuhan epitel yang tebal namun tidak setebal kelompok terapi salep 10% dengan tebal rata-rata 122,49 μm . Sesuai dengan penelitian Malini (2017) yang menunjukkan konsentrasi salep ekstrak kulit jengkol yang paling cepat dalam menyembuhkan luka adalah 10%. Mukherjee (2015) menyatakan bahwa ekstrak tumbuhan yang digunakan sebagai bahan obat jika memiliki konsentrasi rendah mengandung senyawa bioaktif dalam jumlah yang sedikit dan fungsi biologisnya tidak optimal, tetapi pada konsentrasi terlalu tinggi dapat bersifat toksik dan tidak memberikan efek konsentrasi yang optimal.

Pada penelitian ini pemberian salep ekstrak kulit jengkol menunjukkan hasil yang signifikan karena $p < 0,05$ dalam proses reepitelisasi. Berdasarkan hasil dari analisa statistik, kelompok terapi 10% merupakan kelompok dengan dosis terbaik dibandingkan dengan kelompok perlakuan yang lain. Hal ini membuktikan bahwa terjadi proses penyembuhan luka yang cepat. Ketebalan epitel dapat menunjukkan adanya proses reepitelisasi yang berlangsung lebih cepat serta fase inflamasi yang

dapat dilalui dengan lebih cepat. Adanya kandungan flavonoid dan tanin yang terdapat dalam ekstrak kulit jengkol dapat membantu dalam proses reepitelisasi luka insisi dan dapat mempercepat kesembuhan. Flavonoid pada kulit jengkol ini berperan sebagai antiinflamasi. Senyawa ini bekerja dengan mempersingkat fase inflamasi pada proses penyembuhan luka. Pada fase inflamasi terjadi aktivitas fagositosis dari benda asing dan debris luka. Selain flavonoid kulit buah jengkol juga mengandung senyawa tanin. Tanin merupakan salah satu senyawa polifenol yang bekerja sebagai antioksidan dan astringen. Tanin berperan dalam fase proliferasi dan reepitelisasi pada proses penyembuhan jaringan luka (Pratiwi dkk., 2015).

Mekanisme terjadinya reepitelisasi meliputi proses mobilisasi, migrasi dan diferensiasi sel epitel. Mobilisasi dimulai saat sel sel epitel akan bergerak dari tepi jaringan bebas menuju jaringan yang rusak atau daerah perlukaan. Setelah mobilisasi akan terjadi migrasi keratosit menuju daerah perlukaan dan akan membentuk lapisan basal yang berjumlah satu hingga dua lapis. Proses yang terakhir adalah proses diferensiasi yaitu sel sel pada tepian luka akan membentuk menjadi lembaran tipis dan akan menyebar menutup celah pada epitel. Pada proses reepitelisasi fibroblas mengeluarkan *keratinocyte growth factor* atau KGF yang berperan dalam stimulasi mitosis sel epidermal. Keratinisasi dimulai dari pinggir luka sehingga membentuk barrier yang menutupi permukaan luka. Dalam proses penutupan luka fibroblas akan berubah menjadi myofibroblast yang akan berperan dalam kontraksi jaringan (Martyarini, 2011).

BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah disampaikan dapat diambil kesimpulan bahwa:

1. Pemberian salep ekstrak kulit buah jengkol (*A. pauciflorum*) dapat meningkatkan kepadatan kolagen pada tikus (*Rattus norvegicus*) model luka insisi dengan konsentrasi salep 10% terbaik.
2. Pemberian salep ekstrak kulit buah jengkol (*A. pauciflorum*) dapat mempengaruhi ketebalan epidermis pada tikus (*Rattus norvegicus*) model luka insisi dengan konsentrasi 10% terbaik.

6.2 Saran

Saran yang dapat diberikan adalah perlu diadakannya penelitian lebih lanjut untuk mengkaji potensi ekstrak kulit buah jengkol pada luka jenis lain dan menggunakan sediaan lain seperti gel, krim atau pasta.

DAFTAR PUSTAKA

- Adiyati, P. N. 2011. Raham Jenis Ektoparasit Pada Hewan Coba Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Galur Sprague Dawley [Skripsi S.KH]. Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor.
- Bunawan, H., L. Dusik., Siti N. Bunawan., N. M. Amin. 2013. Botany, Traditional Uses, Phytochemistry and Pharmacology of *Archidendron jiringa*: A Review. *Global Journal of Pharmacology* 7(4): 474-478.
- Ditha, A. K., U. Kalsum., I. S. Rini. 2015. Pengaruh Sediaan Salep Ekstrak Daun Sirih Terhadap Jumlah Fibroblas Luka Bakar Derajat IIA pada Tikus Putih Galur Wistar. *Jurnal Volume* 2(1).
- Dorland, W. 2006. *Kamus Kedokteran Dorland*. Jakarta: EGC.
- Febram, B., I. Wientarsih., B. Pontjo. 2010. Aktivitas Sediaan Salep Ekstrak Batang Pohon Pisang Ambon (*Musa paradisiaca var sapientum*) Dalam Proses Persembuhan Luka Pada Mencit (*Mus musculus albinus*). *Majalah Obat Tradisional* 15(3): 121-137.
- Hardjosaputra, S.L. 2008. *Data Obat di Indonesia*. Jakarta: Muliaapurna Jayaterbit.
- Hartiningtyaswati, S. 2010. Hubungan Perilaku Pantang Makaan Dengan Lama Penyembuhan Luka Perineum Pada Ibu Nifas di Kecamatan Srengat Kabupaten Blitar [A.Md Karya Tulis Ilmiah]. Program Studi D IV Kebidanan Fakultas Kedokteran. Universitas Sebelas Maret.
- Hidayati, I. W. 2009. Uji Aktifitas Salep Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) Sebagai Penyembuh Luka Bakar Pada Kulit Punggung Kelinci [Skripsi S.Farm]. Fakultas Farmasi. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Kalangi, S. J. R. 2011. Peran Integrin pada Angiogenesis Penyembuhan Luka. *J. Si. Ind. CDK* 184, 38(3): 177-181.
- Kalangi, S. J. R. 2013. Histofisiologi Kulit. *Jurnal Biomedik (JBM)* 5(3): 12-20.
- Kartika, R. W. 2015. Perawatan Luka Kronis dengan Modern Dressing. *CDK-230* 42(7).
- Kertadjaja, W. 2002. Pengaruh Air Seduhan Teh Hijau (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) Terhadap Epidermisasi Pada Penyembuhan Luka Kulit Mencit (*Mus musculus L.*) Galur C₃H. *Medithek*. 10(27).
- Kumar, V., R. S Cotran., S.L Robbin. 2007. *Buku Ajar Patologi Anatomi Edisi 7 Vol. 2*. Jakarta: EGC.

- Kusriningrum, R. S. 2008. *Buku Ajar Perancangan Percobaan*. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Dani Abadi: Surabaya
- Lamanepa, M. E. L. 2005. Perbandingan Profil Lipid dan Perkembangan Lesi Aterosklerosis pada Tikus Wistar yang Diberi Diet Perasan Pare Dengan Diet Perasan Pare dan Statin [Tesis]. Universitas Diponegoro
- Madiah., N. Ratningsih., D. M. Malini., A. H. Faiza., J. Iskandar. 2017. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Kulit Buah Jengkol (*Archidendron pauciflorum*) Terhadap Tikus Wistar Betina. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon* 3(1): 33-38.
- Malini, Desak M., Madiah., F. Kamilawati. 2017. Uji Potensi Sediaan Salep Ekstrak Etanol Kulit Buah Jengkol Untuk Mempercepat Penutupan Luka Pada Kulit Mencit Model Diabetes. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon* 3(2): 205-210.
- Martiyarini, S. A. 2011. Efek Madu Dalam Proses Epitelisasi Luka Bakar Derajat Dua Dangkal [Skripsi S.Ked]. Program Pendidikan Sarjana Kedokteran Fakultas Kedokteran. Universitas Diponegoro.
- Mukherjee, P.K. 2015. *Evidence-Based Validation of Herbal Medicine*. Amsterdam: Elsevier.
- Murray, R.K. 2014. *Biokimia Harper Edisi 29*. Jakarta: EGC
- Murtutik, L. Dan Marjiyanto. 2013. Hubungan Kadar Albumin Dengan Penyembuhan Luka Pada Pasien Post Operasi Laparotomy di Ruang Mawar Rumah Sakit Slamet Riyadi Surakarta. *Jurnal Ilmu Keperawatan Indonesia* 6(3).
- Nasution, A. A. M., dan D. E. Batubara. 2017. Perbandingan Efektifitas Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya*) 100% dan Gentamisin Krim 0,1% Terhadap Ketebalan Epitel pada Luka Sayat Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Ibnu Sina Biomedika* 1(1).
- Novitasari, Luluk. 2009. Perbedaan Kerusakan Kulit Tikus Wistar Akibat Paparan Arus Listrik Secara Langsung dan Melalui Media Air [S.Ked. Skripsi]. Fakultas Kedokteran. Universitas Diponegoro
- Novriansyah, R. 2008. Perbedaan Kepadatan Kolagen di Sekitar Luka Insisi Tikus Wistar yang Dibalut Kasa Konvensional dan Penutup Oklusif Hidrokoloid Selama 2 dan 14 Hari [M.Biomed. Tesis]. Program Magister Biomedik dan PPDS I. Universitas Diponegoro.
- Patimah, S., Abun., R. H. Supratman. 2012. Pengaruh Penambahan Ekstrak Kulit Jengkol (*Pithecellobium jiringa* (Jack) Prain) Dalam Ransum Terhadap

Jumlah Koloni Bakteri *Escherichia coli* dan *Lactobacillus sp.* Pada Usus Halus Ayam Broiler. Fakultas Peternakan Universitas Padjadjaran.

- Pratiwi, Arum D., Ratnawati, R., Kristianto, H. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kuncup Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) terhadap Peningkatan Ketebalan Epitelisasi Luka Insisi pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar. *Majalah Kesehatan FKUB* 2(3).
- Rahayu, N. 2016. Uji Aktivitas Gel Isolat Katekin Gambir (*Uncaria Gambir Roxb.*) terhadap Penyembuhan Luka Bakar pada Tikus Putih (*Rattus Norveicus*) Jantan Galur Sparague Dawley. [Skripsi]. UIN Syarif Hidayatullah. Surabaya
- Rahmawati, I. 2014. Perbedaan Efek Perawatan Luka Menggunakan Gerusan Daun Petai Cina (*Leucaena glauca, Benth*) dan Povidon Iodine 10% Dalam Mempercepat Penyembuhan Luka Bersih Pada Marmut (*Cavia porcellus*). *Jurnal Wiyata* 1(2).
- Rairisti, A. 2014. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Biji Pinang (*Areca catechu L.*) Terhadap Penyembuhan Luka Sayat Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur Wistar [Skripsi S.Ked]. Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran. Universitas Tanjungpura.
- Ridwan, E. 2013. Etika Pemanfaatan Hewan Percobaan Penelitian Kesehatan. *J Indon Med Assoc* 63(3).
- Rupina, W., H. F. Trianto., I. Fitrianingrum. 2016. Salep Ekstrak Etanol 70% Daun Karamunting terhadap Re-epitelisasi Luka Insisi Kulit Tikus Wistar. *eJournal Kesehatan Indonesia* 4(1).
- Sabirin, I. P. R., A. M. Maskoen., B. S. Hernowo. 2013. Ekstrak Etanol Topikal Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) Pada Penyembuhan Luka Ditinjau dari Imunoekspresi CD34 dan Kolagen pada Tikus Galur Wistar. *MKB* 45(4).
- Sari, R. M. 2011. Pengaruh Pemberian Ekstrak dan Fraksi Daun Katuk (*Sauropus androgynus (L.) Merr*) Terhadap Proses Involusi Uterus Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) [Skripsi S.KH]. Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertaian Bogor.
- Sinaga, M dan R Tarigan. 2012. Penggunaan Bahan Pada Perawatan Luka. Fakultas Keperawatan Universitas Sumatera Utara.
- Syafnir, L., Krishnamurti Y., Ilma M. 2014. Uji aktivitas antidiabetes ekstrak etanol kulit jengkol (*Archidendron pauiflorum (Benth.) I.C Nielsen*). Prosiding SnaPP2014 Sains, Teknologi, dan Kesehatan 4(1): 65-72.
- Tarigan, R. dan U. Pemila. 2007. *Perawatan Lukamoist Wound Healing*. Jakarta: UI

- Triyono, B. 2005. Perbedaan Tampilan Kolagen di Sekitar Luka Insisi Pada Tikus Wistar yang Diberi Infiltrasi Penghilang Nyeri Levobupivakain dan yang Tidak Diberi Levobupivakain [M.Biomed. Tesis]. Program Magister Biomedik dan PPDS I. Universitas Diponegoro.
- Virounbounyapat, P., A. Karnchanatat., P. Sangvanich. 2012. An Alpha-Glucosidase Inhibitory Activity of Thermostable Lectin Protein From *Archidendron jiringa* Nielsen Seeds. *African Journal of Biotechnology* 11(42): 10026-10040.
- Wibowo, Adityo. 2015. Oksigen Hiperbarik: Terapi Percepatan Penyembuhan Luka. *Juke Unila* 5(9): 124-128
- Wulaningsih, A. 2010. Formulasi Sediaan Gel Minyak Atsiri Buah Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC.) dan Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap *Propionibacterium acne* Secara *In Vitro* [Skripsi S.Farm]. Fakultas Farmasi. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Young, A., dan McNaught. 2011. The Physiology of Wound Healing. *Basic Sci* 29(10): 475-479.

